

HEDA MARIA BARSKA DOS SANTOS AMARANTE

**OCORRÊNCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM SP.*
EM INDIVÍDUOS IMUNOCOMPETENTES E
IMUNODEFICIENTES EM CURITIBA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação
em Medicina Interna do Setor de Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini

Co-orientador: Prof. Flávio de Queiroz Telles Filho

CURITIBA

1992

Aos meus pais,
que me ensinaram o caminho.

Ao Antonio,
que o trilha comigo.

Às minhas filhas,
que o iluminam.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ricardo Pasquini, pela sugestão do tema e pela orientação sábia e paciente.

Ao Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho, por sua receptividade e interesse, pela orientação no trabalho laboratorial sem a qual esse estudo não poderia ter sido realizado e pela execução das fotografias que o ilustram.

Ao Dr. Reginaldo Werneck Lopes e ao Dr. Roberto Pirajá Moritz de Araújo, coordenadores do Mestrado de Medicina Interna nesse período, pelo estímulo, pela compreensão e pelo apoio constante.

Às bioquímicas e técnicos do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em especial à Dra. Gisele P. Fernandes Bordignon e ao técnico Paulo Roberto de Queiroz Telles, que executaram comigo os procedimentos laboratoriais, pela sua participação interessada e amiga.

À bioquímica Isaura Kimiko Fugihara do Laboratório de Patologia Clínica Curitiba, e ao Dr. Milton Carneiro Filho, chefe do Laboratório de Parasitologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela permissão para a obtenção de amostras junto a esses laboratórios.

Às enfermeiras, secretárias e técnicos do Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas, dos Serviços de Hematologia do Hospital de Clínicas e Hospital Nossa Senhora das Graças, do Serviço de Isolamento do Hospital de Clínicas e do setor de coleta do Laboratório de Patologia Clínica Curitiba, pelo auxílio na coleta das amostras e dos dados dos pacientes.

Ao Dr. Nelson Peixoto de Souza, ao Dr. Vicente Amato Neto, ao Dr. Rubens Campos e à Dra. Maria Sílvia H. Villela, pelas informações e sugestões valiosas.

Ao Dr. Rubens Campos (Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo) e à Dra. Maria Sílvia H. Villela (Laboratório Fleury - São Paulo), pelas amostras de material positivo utilizado na padronização das técnicas.

À bióloga Elaine Guizeline, do Laboratório de Parasitologia do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo, pela atenção com que me recebeu em São Paulo e pelo envio de várias referências bibliográficas.

Às bibliotecárias da Biblioteca do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, em especial à Srta. Clarice Siqueira Gusso, pelo empenho no levantamento bibliográfico, e à Sra. Áurea Maria Costin, pela revisão das referências bibliográficas.

Ao Professor Ênio José Ditterich pela revisão do texto em português e inglês.

Ao meu esposo, Dr. Antonio Carlos Moreira Amarante, pelo estímulo, pelo apoio e pelo auxílio que efetivamente me deu em diversas fases deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, que, das formas mais variadas, contribuíram para que este estudo pudesse ser concluído.

Ao Sr. Marcelo Araújo Muzzillo, pela editoração cuidadosa deste volume.

RESUMO

Com o objetivo de verificar a ocorrência do parasita *Cryptosporidium sp.* em Curitiba, foram examinadas 420 amostras de fezes de 317 indivíduos imunocompetentes e de 103 indivíduos imunodeficientes, dos quais 200 apresentavam diarreia e 220 apresentavam fezes normais. O coccídio foi identificado pela coloração de Ziehl-Neelsen modificada, associada à concentração por flutuação em solução de Sheater, em 6 casos (1,42%). Desses, 4 eram adultos imunodeficientes, 1 era adulto imunocompetente e 1 era uma criança imunocompetente. A ocorrência nos indivíduos imunocompetentes estudados (317) foi de 0,63%. No grupo de imunocompetentes com diarreia (153) foi de 1,31%. O estado de portador não foi identificado entre os indivíduos sadios estudados (164 indivíduos imunocompetentes sem diarreia). Dentre as 32 crianças imunocompetentes com diarreia estudadas, houve 1 caso positivo (3,13%). A ocorrência nos indivíduos imunodeficientes estudados (103) foi de 3,88%. No grupo imunodeficiente com diarreia (47 indivíduos) foi de 6,38% e no grupo imunodeficiente sem diarreia (56) foi de 1,75%. As técnicas de concentração e coloração associadas mostraram-se de fácil execução e foram implantadas no Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os resultados obtidos demonstraram que a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* em Curitiba é baixa, não se justificando sua pesquisa rotineira nos casos de diarreia em indivíduos imunocompetentes. Sugere-se que esse coocídio seja pesquisado nos indivíduos imunodeficientes que apresentem diarreia.

SUMÁRIO

1.	Introdução	1
2.	Objetivos	5
3.	Revisão da Literatura	8
3.1.	Histórico.....	9
3.2.	Taxonomia e Ciclo Vital.....	11
3.3.	Epidemiologia	18
3.3.1.	Reservatórios.....	18
3.3.2.	Fatores de risco	18
3.3.3.	Frequência e distribuição geográfica.....	20
3.3.4.	Distribuição por idade, sexo e raça	27
3.3.5.	Sazonalidade	27
3.3.6.	Tempo de incubação e excreção	27
3.3.7.	Modos de transmissão.....	28
3.3.8.	Infecciosidade e resistência.....	32
3.4.	Patogenia.....	34
3.5.	Quadro clínico.....	37
3.6.	Manifestações clínicas nos animais	40
3.7.	Diagnóstico laboratorial	41
3.7.1.	Diagnóstico histológico	42
3.7.2.	Diagnóstico laboratorial	42
3.7.2.1.	Coleta e tratamento de amostras de fezes ..	43
3.7.2.2.	Métodos de concentração	44
3.7.2.3.	Métodos de coloração	44
3.7.2.4.	Métodos sorológicos.....	46
3.8.	Tratamento	46
3.8.1.	Tratamento.....	46
3.8.2.	Prevenção.....	50
4.	Casuística e Métodos.....	51
5.	Resultados	57
6.	Discussão.....	66
7.	Conclusões.....	72
8.	Abstract	74
9.	Apêndice	77
10.	Referências Bibliográficas.....	80

TABELAS

Tabela I	Posição taxonômica do <i>Cryptosporidium sp.</i>	11
Tabela II	Classificação e características biológicas	12
Tabela III	Distribuição do <i>Cryptosporidium sp.</i> nos animais	18
Tabela IV	Características biológico-epidemiológicas do <i>C. parvum</i> associadas à transmissibilidade ao homem.....	19
Tabela V	Distribuição geográfica/ freqüência do <i>Cryptosporidium sp.</i> ..	21
Tabela VI	Lista dos compostos terapêuticos e preventivos usados para infecção por <i>Cryptosporidium sp.</i>	47
Tabela VII	Distribuição dos pacientes por idade e sexo.....	55
Tabela VIII	Distribuição dos pacientes por idade	56
Tabela IX	Distribuição dos pacientes nos subgrupos.....	56
Tabela X	Casos positivos	59
Tabela XI	Ocorrência do <i>Cryptosporidium sp.</i> — Indivíduos imunocompetentes	60
Tabela XII	Ocorrência do <i>Cryptosporidium sp.</i> — Indivíduos imunodeficientes	60
Tabela XIII	Ocorrência do <i>Cryptosporidium sp.</i> — Indivíduos com e sem diarreia.....	61

FIGURAS

Figura I	Características morfológicas especiais do <i>Cryptosporidium</i> <i>sp.</i>	16
Figura II	Representação do ciclo vital do <i>Cryptosporidium sp.</i>	17
Figura III	Reservatório e rotas de transmissão do <i>Cryptosporidium</i> <i>sp.</i>	31
Figura IV	Grupos de estudo propostos	55

FOTOS

Foto 1	Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado..	63
Foto 2	Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado..	63
Foto 3	Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado..	64
Foto 4	Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado..	64

GRÁFICO

Gráfico I	Gráfico de percentuais de positividade	61
-----------	--	----

1. INTRODUÇÃO

1.

INTRODUÇÃO

A criptosporidiose surgiu na cena médica de modo importante a partir do início dos anos 80 como uma infecção oportunista, acompanhando a explosão do número de casos de síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) em vários países, embora casos humanos já tivessem sido descritos a partir de 1976 em pacientes imunocompetentes e imunocomprometidos como ocorrência esporádica e encarados como zoonose.

Apesar de seu agente etiológico, o *Cryptosporidium sp.*, ter sido descrito no início desse século, ele somente ganhou importância como agente patogênico na década de 50, quando passou a ser identificado como causa de doença diarreica em aves. Trata-se de um parasita protozoário coccídeo de pequenas dimensões, relacionado taxonomicamente com o *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli* e *Sarcocystis*. Adquirido por transmissão fecal-oral, o *Cryptosporidium sp.* instala-se predominantemente no epitélio intestinal, levando à doença diarreica cujas características clínicas podem variar de uma doença

leve, de curta duração e autolimitada, até quadros graves de diarreia coleriforme, prolongada, intratável, com mortalidade acima de 70% dos casos.

A criptosporidiose intestinal passou a ser pesquisada com maior frequência e facilidade a partir da comprovação de que seu oocisto, uma das formas evolutivas, é regularmente excretado nas fezes dos infectados. A característica tintorial álcool-ácido resistente do oocisto permitiu o desenvolvimento de técnicas de coloração sensíveis, às quais vieram juntar-se técnicas de concentração das amostras de fezes, elevando, assim, o número de casos diagnosticados. Com base nesses métodos, estudos epidemiológicos puderam ser efetuados e levantaram a ocorrência da criptosporidiose em países de todos os continentes, demonstrando a ubiquidade do parasita.

No Brasil, os levantamentos publicados referem-se ao estudo de crianças de localidades das regiões norte e nordeste do país, de grupos de risco para SIDA, de surto epidêmico em creche e à descrição de casos esporádicos, dando conta da existência do parasita em nosso país, porém em localidades e grupos populacionais bastante diversos. Os resultados encontrados sugerem tratar-se de um agente comum de doença diarreica nos grupos estudados.

A patogenia da criptosporidiose intestinal não está bem definida. No entanto tornou-se clara a relação entre a gravidade da doença e o estado imunitário do indivíduo, passando a criptosporidiose intestinal para o rol de infecções que podem levar doentes imunocomprometidos à morte. Dentre esses doentes têm recebido maior atenção os portadores de SIDA. Todavia portadores de outras modalidades de comprometimento imune devem ser considerados de alto risco em potencial e casos têm sido descritos em pacientes com leucemias, imunodeficiência combinada, pós-quimioterapia para tratamento de câncer, pós-transplante renal e pós-transplante de medula óssea. Os pacientes preparados para o transplante de medula óssea passam a apresentar deficiência imunitária muito semelhante à dos portadores de HIV com profundo comprometimento da imunidade celular e humoral (COURA, 1987). Esse fato os tornaria igualmente suscetíveis a uma evolução desastrosa quando infectados pelo *Cryptosporidium* sp.

Embora a expectativa de tratamento eficaz ainda seja vaga, é de interesse a determinação da ocorrência dessa parasitose em nosso meio, e em especial nos grupos de maior risco, com vistas à adoção de medidas preventivas, à determinação da necessidade da inclusão de

métodos diagnósticos específicos na investigação das doenças diarreicas, ao estabelecimento de rotinas laboratoriais confiáveis e de custo aceitável, assim como a evitar utilização desnecessária de métodos diagnósticos invasivos.

Considerando as informações aqui expostas, bem como o interesse manifestado pelo Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, julgamos oportuno desenvolver o levantamento da ocorrência do *Cryptosporidium sp.* em indivíduos imunocompetentes e imunodeficientes em Curitiba.

2. OBJETIVOS

2.

OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivos :

1. Pesquisar a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* em indivíduos normais e imunodeficientes em Curitiba;
2. Reunir os dados da literatura crescente a respeito do *Cryptosporidium sp.*, organizando uma fonte de consulta para servir de base a futuros estudos.

Para atingir o primeiro objetivo, adota-se como estratégia pesquisar a presença do *Cryptosporidium sp.* nas fezes de indivíduos dos seguintes grupos:

1. Pacientes imunodeficientes, amostrados da clientela do Hospital de Clínicas, incluindo pacientes do Serviço de Transplante de Medula Óssea, e do Hospital N. S. das Graças (Curitiba), com e sem diarreia;

2. Pacientes imunocompetentes portadores de diarreia, amostrados da clientela do Hospital de Clínicas;
3. Indivíduos imunocompetentes sem diarreia, como grupo-controle.

Em relação ao segundo objetivo, propõe-se condensar as informações fundamentais a respeito do *Cryptosporidium sp.* e da criptosporidiose, contidas em publicações científicas, editadas nas línguas portuguesa, inglesa, francesa e espanhola, a partir de 1976.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.

REVISÃO DA LITERATURA

3.1. HISTÓRICO

A primeira descrição do *Cryptosporidium* sp. foi feita por TYZZER em 1907, que o observou nas glândulas gástricas de camundongo e o relacionou com os protozoários coccídios, verificou sua característica extracelular e o denominou de *Cryptosporidium muris*. Subseqüentemente o mesmo autor encontrou um organismo similar no intestino delgado de camundongo denominando-o *Cryptosporidium parvum* Tyzzer, 1912 (TYZZER, 1929). Sucessivamente o *Cryptosporidium* sp. foi descrito em diversas espécies de mamíferos, aves e répteis, porém sua patogenicidade somente se tornou suspeita a partir da descrição do *Cryptosporidium meleagridis*, quando de um surto de diarreias em perus por SLAVIN em 1955 (*apud* TZIPORI, 1988). Na década de 60 e 70, vários estudos em animais de laboratório trouxeram contribuições para a compreensão da morfologia e do ciclo vital desse parasita.

Também nos anos 70 passaram a ser descritos casos esporádicos e surtos de diarreia por criptosporidiose em animais de criação, especialmente gado bovino, animais selvagens e animais de estimação.

Em 1976, foi descrito o primeiro caso de criptosporidiose em ser humano por NIME et al; tratava-se de uma criança de 3 anos de idade, residente em área rural, imunocompetente, cujo diagnóstico foi efetuado através de biópsia da mucosa retal. A evolução para a cura foi espontânea. Nesse mesmo ano, MEISEL et al relatam outro caso, ocorrido em paciente de 30 anos de idade, imunossuprimido por tratamento com corticosteróides para pênfigo bolhoso. A cura foi espontânea após a retirada da medicação imunossupressora. Nessa primeira fase, o diagnóstico era obtido somente através do estudo histológico das biópsias de mucosa intestinal.

Em 1980 BIRD e SMITH demonstraram não haver diferença morfológica entre as formas do *Cryptosporidium sp.* encontradas no ser humano e nos animais. O exame de fezes para pesquisa de oocistos, que já passara a ser empregado para diagnóstico de *Cryptosporidium sp.* em animais, através de técnicas de concentração e coloração de Giemsa e, posteriormente, colorações ácido-resistentes, passa a ser utilizado para a pesquisa da doença em humanos (TYZIPORI, 1980; REESE et al, 1982). Várias técnicas de concentração e coloração foram testadas, definindo-se sua utilidade e valor (GARCIA et al, 1983; MA et al, 1983).

Surgiram novos relatos de casos esporádicos em pacientes adultos e crianças, imunocompetentes e imunodeficientes, em número pequeno até 1981. Esse número cresceu paralelamente ao crescimento do número de casos de SIDA, configurando uma possível relação com estados de imunodeficiência, visto que se tratavam também dos casos mais graves e prolongados.

A prevalência da infecção na população geral começa a ser levantada a partir de 1983, com estudos epidemiológicos em todos os continentes, demonstrando que o *Cryptosporidium sp.* pode ser bastante comum em algumas áreas e fazendo com que a criptosporidiose passe a ser reconhecida como causa de diarreia crônica em imunodeprimidos e como causa de diarreia aguda em crianças.

Surtos epidêmicos foram descritos a partir de 1986. Os modos de transmissão zoonótico e urbano começaram a ser compreendidos, porém os métodos para profilaxia e tratamento não sofreram maior progresso até o final da década, apesar dos esforços nessa área.

3.2. TAXONOMIA E CICLO VITAL

Cryptosporidium sp. é um protozoário coccídio cuja classificação taxonômica denota sua estrutura e biologia básicas. Ele é assim chamado porque parece não ter a estrutura de esporocisto encontrada em outros coccídios, sendo os esporos indistinguíveis, ausentes ou ocultos no oocisto (TYZZER, 1910).

Apresenta também algumas características biológicas particulares que o distinguem de outros coccídios. Diversamente do *Toxoplasma gondii*, *Eimeria* e espécies de *Isospora*, todos da subordem Eimeriina, o desenvolvimento completo do *Cryptosporidium* sp. ocorre em um único hospedeiro (ciclo monóxeno) e parece estar confinado ao bordo microviloso mais do que ao citoplasma das células epiteliais. Os oocistos esporulam endogenamente e liberam 4 esporozoítos, que são imediatamente infectantes para o hospedeiro. A segunda geração de merozoítos parece capaz de reiniciar a esquizogênese ao invés de mover-se para a fase sexual do ciclo. Como resultado dessa característica de desenvolvimento, o *Cryptosporidium* sp. tem um alto potencial de reinfecção para o mesmo hospedeiro. Clinicamente, isso se reflete em doença crônica e eliminação persistente de oocistos, fatos observados em doentes com SIDA e criptosporidiose (SOAVE et al, 1986).

TABELA I

Posição Taxonômica do *Cryptosporidium* sp.

Filo	Apicomplexa		
Classe	Sporozoea		
Subclasse	Coccidia		
Ordem	Eucoccidiida		
Subordem	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> Eimeriina </div> <div style="text-align: center;"> Haemosporina (malarias) </div> </div>		
Família	Sarcocystidae	Eimeriidae	Cryptosporidiidae
Gênero	Sarcocystis Toxoplasma	Eimeria Isospora	Cryptosporidium

A Tabela I mostra a posição taxonômica do *Cryptosporidium* sp. de forma simplificada, apresentando sua relação com outras espécies de

importância médica (extraído de CASEMORE et al, 1985). A subordem Eimeriina contém 13 famílias, reunindo mais de 1500 espécies, a maioria nos gêneros *Eimeria* e *Isospora* (TZIPORI, 1988).

Na tabela II estão reunidas as características biológicas utilizadas para a classificação (O'DONOGHUE, 1985).

TABELA II

CLASSIFICAÇÃO		CARACTERÍSTICAS
Filo	Apicomplexa	Complexo apical Microporos presentes Sem cílios Sem flagelo Todos parasitas
Classe	Sporozoea	Oocistos ou esporos formados Ciclo homóximo ou heteróximo Conóide completo
Subclasse	Coccidia	Coccídios intracelulares em vertebrados principalmente Gamontes maduros pequenos
Ordem	Eucoccidiida	Merogonia(ou esquizogênese)
Subordem	Eimeriina	Zigoto não móvel Sem sizigia
Família	Cryptosporidiidae	Oocisto com 4 esporozoítos Nus e corpo residual Sem esporocisto.

A diferenciação em espécies é área de grande controvérsia. A ocorrência de mais de uma espécie do gênero foi proposta por TYZZER, quando em 1912, descreveu o *C. parvum*, cujo oocisto tinha características morfológicas próprias e colonizava o intestino delgado do camundongo diferentemente do *C. muris* descrito em 1907. Até 1980, quase duas dezenas de novas espécies haviam sido descritas com base na preferência por hospedeiro. Considerando não haver especificidade por hospedeiro, conforme ficou provado em estudos de transmissão cruzada (TZIPORI, 1983; REESE et al, 1982), pelo menos entre os mamíferos, surgiu uma tendência a unificar as espécies e considerar o gênero como sendo de espécie única (TZIPORI, 1980). Com base no fato de que inoculações cruzadas não foram tentadas ou

foram negativas (ISEKI, 1979 apud TZIPORI, 1988; VETTERLING et al, 1971) entre classes diferentes de vertebrados, LEVINE, em 1984, propôs que fossem consideradas válidas 4 espécies que seriam: *C. muris* Tyzzer, 1907 em mamíferos ; *C. meleagridis* Slavin, 1955 em aves; *C. crotali* Triffit, 1925 em répteis e *C. nasorum* Hoover, Hoerr, Carlton, Hinsman e Ferguson, 1981 em peixes. Abaixo estão relacionadas as espécies descritas até então e seu sinônimo proposto por LEVINE (1980, 1984).

1. *C. agni* Barker e Carbonell, 1974. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
2. *C. ameivae* Arcay de Peraza e Bastardo de São José, 1969. *Nomen nudum*.
3. *C. anserinum* Proctor & Kemp, 1974. Sinônimo de *C. meleagridis* Slavin, 1955.
4. *C. bovis* Barker & Carbonell, 1974. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
5. *C. crotali* Triffit, 1925. Espécie válida.
6. *C. ctenosauris* Duszynski, 1969. Sinônimo de *Sarcocystis ctenosauris* (Duszynski, 1969) Levine e Tadros, 1980.
7. *C. cuniculus* Inman & Takeuchi, 1979. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
8. *C. felis* Iseki, 1979. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
9. *C. garnhami* Bird, 1981. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
10. *C. lampropeltis* Anderson, Duszynski e Marquardt, 1968. Sinônimo de *Sarcocystis lampropeltis* (Anderson, Duszynski & Marquardt, 1968) Levine e Tadros, 1980.
11. *C. meleagridis* Slavin, 1955. Espécie válida.
12. *C. muris* Tyzzer, 1907. Espécie válida (TYPE SPECIES).
13. *C. nasorum* Hoover, Hoerr, Carlton, Hinsman e Ferguson, 1981. Espécie válida.
14. *C. parvum* Tyzzer, 1912. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
15. *C. rhesi* Levine, 1981. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.
16. *C. serpentis* Levine, 1981. Sinônimo de *C. crotali* Triffit, 1925.

17. *C. tyzzeri* Levine, 1961. Sinônimo de *C. meleagridis* Slavin, 1955.
18. *C. vulpis* Wetzel, 1938. Sinônimo de *Sarcocystis tenella* (Railliet, 1886) Moulé, 1886 ou *S. miescheriana* (Kühn, 1865) Labbé, 1889.
19. *C. wrairi* Vetterling, Jervis, Merrill & Sprinz, 1971. Sinônimo de *C. muris* Tyzzer, 1907.

Portanto, todos os isolados de mamíferos recairiam na espécie *C. muris*. Discordando, UPTON e CURRENT (1985) estudaram oocistos obtidos de fezes de gado e redescreveram o *C. muris* e o *C. parvum*. A partir desse estudo, ratificaram e complementaram a descrição inicial de TYZZER e propuseram que as duas espécies fossem consideradas válidas para o *Cryptosporidium* encontrado em mamíferos.

A falta de especificidade para hospedeiro é uma característica importante do *Cryptosporidium sp.* e que o diferencia dos demais coccídios. Talvez "diferenças de cepa" possam explicar preferências por um hospedeiro em particular ou por uma localização dentro do hospedeiro (TZIPORI, 1988). A literatura mostra preferência pela denominação de *Cryptosporidium sp.* devido a essa controvérsia e assim deverá persistir, enquanto não houver melhor distinção morfológica e antigênica entre os isolados em estudo.

Os estágios do ciclo vital do *Cryptosporidium sp.* foram descritos por diversos autores, sendo destacados os estudos de TYZZER (1907 e 1910), HAMPTON e ROSÁRIO (1966, apud CASEMORE et al, 1985), VETTERLING (1971), ISEKI (1979, apud TZIPORI, 1988), POHLENZ et al (1978), GOEBEL e BRAENDLER (1982), CURRENT et al (1986), MARCIAL e MADARA (1986), CURRENT e HAYNES (1984), REDUCKER et al (1985). Em suas extensas revisões TZIPORI (1988) e CASEMORE (1990) organizaram e analisaram essas informações, as quais estão resumidas abaixo e nas figuras I e II.

A forma exógena ou infectante do *Cryptosporidium sp.* é o oocisto cuja ingestão e localização em uma superfície epitelial, em geral no intestino do hospedeiro, dá início ao ciclo vital composto por vários estágios, que incluem desencistamento, merogonia (assexual), gamogonia (sexual), fertilização, formação do oocisto e esporulação.

O oocisto foi descrito como uma estrutura esférica ou ovóide medindo 5,0 x 4,5 micra (4,5-5,4 x 4,2-5,0), com parede lisa e incolor composta por uma camada fina de cerca de 0,4 micra de espessura; uma sutura

subterminal, apagada, está presente em um dos pólos do oocisto e estende-se diagonalmente através de 1/3 a 1/2 da circunferência do oocisto. Estão ausentes grânulo polar e micropili. Está presente resíduo de oocisto, com 2,4 x 2,5 micra, composto de numerosos e pequenos grânulos, e um glóbulo cercado por membrana esférica ou ovóide. Quatro esporozoítos alongados estão presentes dentro de cada oocisto com 4,9 x 1,2 micra, corpos refráteis ausentes, núcleo posterior (UPTON e CURRENT, 1985; TYZZER, 1912).

Cerca de 80% dos oocistos formados desenvolvem parede espessa e são eliminados nas fezes, enquanto que cerca de 20% apresentam paredes delgadas, sofrendo desencistamento e liberação dos esporozoítos dentro do mesmo hospedeiro. Essa característica confere ao *Cryptosporidium* sp. potencial de auto-infecção (CURRENT et al, 1986; MARCIAL e MADARA, 1986).

Os oocistos de parede espessa eliminados nas fezes são altamente resistentes às condições ambientais (COLLINS et al, 1984) e à maioria dos desinfetantes laboratoriais comuns (CAMPBELL et al, 1982). Sua infecciosidade mantém-se por meses, se armazenados em dicromato de potássio a 4°C, mas pode ser eliminada pela amônia, formalina, água sanitária comercial concentrada, congelamento e aquecimento acima de 65°C por trinta minutos (TZIPORI, 1983). Suas características tintoriais, tomando a safranina ou a carbolfucsina com ácido-resistência, permitiram que sua pesquisa nas fezes se tornasse o método mais comum para o diagnóstico da criptosporidiose.

Oocistos atípicos foram descritos por BAXBY e BLUNDELL (1988) como uma variedade não encontrada em fezes que contêm oocistos típicos; não corresponderiam, no entanto, a oocistos degenerados e sim a uma forma com características próprias. Esse oocisto apresenta, à microscopia eletrônica, uma cobertura externa de 3 camadas e, à imunofluorescência com anti-soro monoclonal, demonstra ausência de um antígeno presente na superfície dos oocistos típicos. É frágil e sofre colapso com facilidade em soluções hiperosmóticas, porém apresenta aspectos característicos, se processado em solução de sacarose-fenol. Não pode ser corado pelos métodos habituais para oocistos típicos. Seriam oocistos de uma cepa variante.

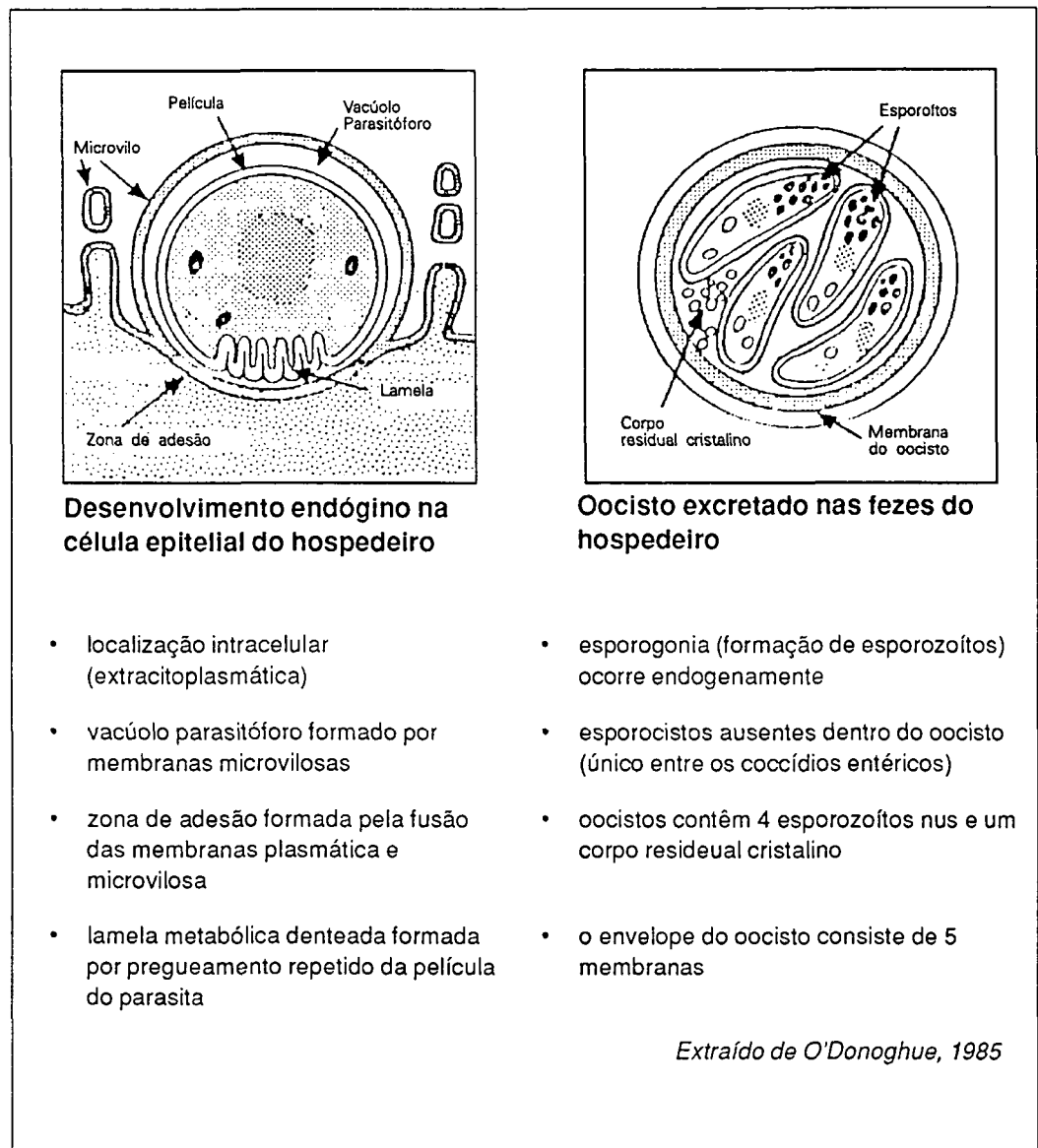


Figura I - Características morfológicas especiais do *Cryptosporidium* sp.

Uma vez na luz intestinal, o oocisto sofre desencistamento, o qual, *in vitro*, requer a ação combinada de tripsina e sais biliares (CURRENT e HAYNES, 1984). Libera, então, quatro esporozoítos sem esporocistos, móveis e não flagelados, indistinguíveis dos merozoítos. Essas formas entram ativamente no bordo microviloso epitelial do intestino.

As formas endógenas são todas tissulares, exceto o microgameta, que pode ser encontrado na luz intestinal. São também de pequenas dimensões, medindo cerca de 2 a 6 micra .

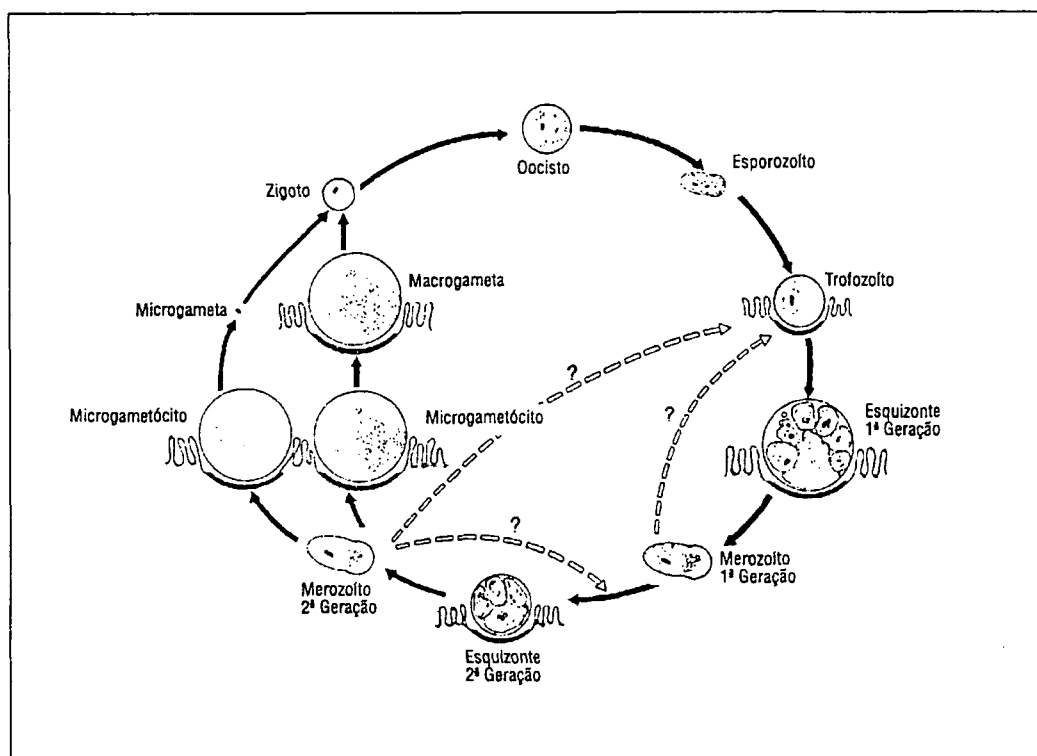


Figura II - Representação do ciclo vital do *Cryptosporidium sp.*

O esporozoíto (e posteriormente o merozoíto) produz uma indentação na membrana microvilosa, invaginando-a como uma luva. A dupla membrana da célula do hospedeiro estende-se ao longo da superfície do parasita, cobrindo-o inteiramente e formando um envelope parasitóforo (ou vacúolo parasitóforo) que encapsula o parasita. Bandas eletrodensas se formam no citoplasma da célula hospedeira, opondo-se ao parasita. A membrana plasmática do parasita funde-se a essa base da membrana da célula hospedeira invaginada e essa interface passa a sofrer alterações que dão origem à "organela alimentadora". Essas alterações na interface parasita/hospedeiro foram estudadas detalhadamente por GOEBEL e BRAENDLER (1982) e MARCIAL e MADARA(1986), cujos trabalhos confirmaram que o *Cryptosporidium sp.* é um parasita intracelular extracitoplasmático.

Uma vez localizado na célula epitelial, o trofozoíto sofre proliferação assexuada (esquizogênese ou merogonia) com a formação do esquizonte, o qual libera 8 merozoítos na primeira geração. Esses passam a parasitar novas células, produzindo cada esquizonte 4 merozoítos de segunda geração. A isso se segue a geração de micro e macrogamontes produzindo a fase sexual do ciclo (gamogonia).

A fertilização ocorre mais provavelmente pela penetração do microgameta no macrogameta. As mudanças que se sucedem dão origem ao oocisto, o qual passará a sofrer esporogonia. O oocisto esporulado é, então, liberado do vacúolo parasitóforo, constituindo a forma exógena infectante.

3.3. EPIDEMIOLOGIA

3.3.1. Reservatórios

O coccídio *Cryptosporidium sp.* foi encontrado em associação com quadro de diarreia em praticamente todas as partes do mundo, sendo, portanto, um parasita ubíquo cujo reservatório natural é amplo. A tabela III mostra os animais já descritos como hospedeiros.

Tabela III

Distribuição do *Cryptosporidium sp.* nos Animais

MAMÍFEROS	AVES	RÉPTEIS	PEIXES
bovinos	galinhas	cascavel	carpa
ovinos	perus	jibóia	barbeiro
caprinos	codorna		
uínos	pavão		
cervídeos	faisão		
gazelas	gansos		
cavalos	patos		
cães	papagaios		
gatos	canários		
procionídeos			
coelhos			
camundongos			
ratos			
cobaias			
hamsters			
esquilo cinzento			

Extraído de O'Donoghue, 1985.

3.3.2. Fatores de risco

A maior parte das infecções no ser humano ou em animais de criação ocorre provavelmente pelo *Cryptosporidium parvum* (CASEMORE et al, 1985; CURRENT et al, 1986; UPTON et al, 1985), sendo possível a

existência de cepas ou subtipos antigênicos adaptados aos diversos hospedeiros. A tabela IV mostra as características biológico-epidemiológicas do *Cryptosporidium parvum* associadas à transmissibilidade ao homem.

TABELA IV

Características biológico-epidemiológicas do *C. parvum* associadas à transmissibilidade ao homem

Transmissão cruzada entre espécies hospedeiras
Ausência de especificidade por tecido
Ubiquidade (homem, animais e alimentos)
Monóxeno (desenvolvimento completo em um único hospedeiro)
Oocisto excretado totalmente esporulado
Oocistos excretados em grande número
Dose infectante provavelmente baixa
Oocistos resistentes ao ambiente
Oocistos resistentes aos desinfetantes comuns
Modo de infecção fecal-oral (e outros: vômito? aerosol?)
Transmissão pessoa a pessoa

Extraído de Casemore, 1990

Os múltiplos estudos epidemiológicos da criptosporidiose nos últimos anos levantaram os fatores de risco no ser humano (SOAVE et al, 1986), que são:

a) Hospedeiro imunocomprometido:

- imunodeficiência congênita;
- terapia imunossupressora;
- síndrome de imunodeficiência adquirida

b) Hospedeiro imunocompetente:

- casos esporádicos;
- tratadores de animais;
- homossexual masculino;

- viajantes para áreas endêmicas;
- contatos domiciliares de pacientes infectados;
- pessoal hospitalar;
- habitantes de países em desenvolvimento;
- crianças em creche.

3.3.3. Frequência e distribuição geográfica

A frequência da criptosporidiose gira em torno de 1 a 4% nos países desenvolvidos e até 16% nos países em desenvolvimento nos grupos populacionais estudados (MATA, 1986; CASEMORE, 1990). Em levantamentos que verificaram concomitantemente outras parasitoses e infecções bacterianas a criptosporidiose tem-se colocado entre as mais comuns em alguns países (JOKIPII et al, 1983; CASEMORE et al, 1985; VERMUND et al, 1986; HOLLEY et al, 1986).

A tabela V mostra a ocorrência observada nos diversos países de todos os continentes. A grande maioria dos estudos está baseada na detecção do oocisto do *Cryptosporidium* sp. nas fezes. Poucos são baseados em estudos sorológicos. Como se pode esperar, as taxas de seroprevalência tendem a ser muito mais altas do que a frequência de detecção do oocisto. Esforços têm sido feitos para realizar estudos sorológicos usando técnicas de imunofluorescência, ELISA e densitometria a laser (CASEMORE, 1987; RUSH et al, 1985; CASEMORE et al, 1986; HAYES et al, 1989; KOCH et al, 1985; SOAVE et al, 1985; TZIPORI, 1981; CAMPBELL et al, 1983; UNGAR et al, 1986; UNGAR et al, 1988; UNGAR et al, 1989). A interpretação de seus resultados ainda é dificultada pela heterogeneidade da metodologia e pela própria complexidade antigênica do oocisto. Pode-se acreditar, no entanto, que futuramente esses métodos definirão a verdadeira prevalência da criptosporidiose.

Tabela V
Ocorrência de *Cryptosporidium sp.* nos diversos continentes

ÁFRICA

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIG. MAT.	EST. IMUN.	REF.	OBS.
África do Sul	Urbana	Adultos e Crianças	3186	4,1 (6,2% cças)	?	?	Steele et al, 1989	-
Abidjan	Urbana	2m a 4 anos	104	9	Hospitalizados por diarreia	?	Koffi-Akova et al, 1989	-
EUA/ África Oeste	Militares em trânsito	Adultos	75	32 % antes ↑13,6 depois	Viajantes (pesquisa)	IC	Ungar et al, 1989	-
Egito (sul)	?	média 18m	151	9	Hospital e ambulatório	?	Mikhail et al, 1989	-
Ghana	?	↓ 5 anos	474	12,4	Hospital	?	Addy et al, 1986	-
Kenya	Urbana	Adultos e crianças	133	3,8	Hospital	?	Estambale et al, 1989	-
Kwait	?	Adultos e crianças	1151	0,8	Lab.	?	Hira et al, 1989	Todos os + em cças
Liberia	Rural ou favelada	↓ 5 anos	278	7,9	Hospital	?	Hojlyng et al, 1984	-
Marrocos	Urbana	8 dias a 14 anos	300	8,66	Hospital	?	Guessous-Idrissi et al, 1990	-
Rwanda	?	Adultos e crianças	100 e 193	3 e 10,4	Hospital	?	Bogaerts et al, 1984	94 controles –

OCEANIA

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIG. MAT.	ESTADO IMUN.	REF.	OBS.
Austrália	Urbana	Adultos e Crianças	884	4,1 (1,6% adultos)	Hospital	?	Tzipori et al. 1983	320 controles - > %
Austrália	Urbana	Adultos e Crianças	3000 e 94	0,19 e 9,4	Lab. e Hospital	?	Lumb et al. 1985	-

ÁSIA

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIG. MAT.	ESTADO IMUN.	REF.	OBS.
Índia	?	Crianças	1326	13,1	Hospital	?	Mathan et al. 1985	9,8+ % nas Cças sem diarreia
Índia	Rural	↓ 5 Anos	126	4,8	Hospital	?	Sengupta et al. 1988	4% único agente
Índia	?	Crianças	566	5,6	Hospital	?	Pal et al. 1989	1,2% + em 167 controles
Índia	Urbana	Crianças	180	4,4	Hospital	?	Pherwani et al. 1989	100 controles -
Índia	?	Crianças	266	6	Hospital	?	Reinthalier et al. 1989	3% + em 294 controles
Índia	Urbana	Adultos e Crianças	1382	3	Hospital	?	Rahman et al. 1990	235 controles -
Bangladesh	Urbana	Adultos/ Cças	578	4,3	Hospital	?	Shahid et al. 1985	> parte dos + ↓ 2 anos
Índia	Rural ?	↓ 8 anos	77	13	Hospital	?	Subramanian et al. 1989	155 controles -

EUROPA

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIGEM DO MAT.	EST. IMUN.	REF.	OBS.
Alemanha	Urbana	Adultos e Crianças	410 (1160 Amostras)	0,48 (1,1% nas cças c/ diarreia)	Pesquisa	250 IC 160 ID	Kern et al, 1987	60 controles –
Finlândia	Urbana	Adultos e Crianças	1422	1	Lab.	?	Jokipii et al, 1983	Das 154 amostras coradas especial/ 10,8% +
Inglaterra	Urbana	Adultos e Crianças	867	5	Lab.	?	Hunt et al, 1984	7% Grupo Infantil
Inglaterra	Urbana	2 Sem. a 11a.	213	3,2	Hospital	IC	Isaacs et al, 1985	112 controles com 0,9%
Inglaterra e Gales	Urbana	Adultos e Crianças	62421 amostras	2	Lab. (com diarreia)	?	PHLSG, 1985	> + entre 1 e 4 anos
Gales	Urbana	1m a 100 a.	500	1,4	Hospital	?	Casemore et al, 1985	2,8% < 16 anos
Inglaterra	Urbana	Crianças	4028	1,4	Hospital	IC e ID	Baxby et al, 1986	435 controles –
França	Urbana	Crianças	190	2,1	Hospital	?	Arnaud-Battandier et al, 1985	-
Itália	Urbana	↓ 9 anos	124	7,2	Hospital	?	Caprioli et al, 1989	41 controles c/ 1 +
Irlanda	Urbana e rural	Crianças	935	4,3	Hospital	?	Corbett-Feeney, 1987	Diarréia aguda
Espanha	?	Adultos e crianças	85	8,2	Hospital	?	Portus et al, 1985	103 controles com 2 +
		surto creche	22	81,8	Surto			

AMÉRICA DO SUL

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIG. MAT.	EST. IMUN.	REF.	OBS.
Argentina	?	Crianças	210	7,6	Hospital	IC	Zdero et al, 1989	-
Chile	Urbana	Adultos e Crianças	154	6,1	Hospital	?	Weitz et al, 1986	16 controles -. Todos os + < 6 anos
Chile	Urbana	Adultos e crianças	33 e 70	24,3 e 5,5	Pesquisa (centro nutricional c/ surto)	IC	Weitz et al, 1987	Metade dos + assintomáticos
		Adultos e Crianças	22 e 54	3,7	s/ surto	IC		Todos assintomáticos
Chile	Urbana	Adultos e crianças	1039	3,7	Pesquisa (Centro Nutricional)	IC	Meira et al, 1989	-

AMÉRICA CENTRAL

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIG. MAT.	EST. IMUN.	REF.	OBS.
Costa Rica	Rural	Crianças	95	4,3	Pesquisa	?	Mata et al, 1984	36 controles -
	Urbano	Crianças	183					51 controles - (↓ 1 ano só urbanos)
Guatemala	Rural e Periférico	Crianças	250	20,4	Hospital	?	Blanco et al, 1984	250 controles c/ 11,5 % +
México	Rural	2m a 13a	57	32	Pesquisa	?	Soave et al, 1989	3 + assintomáticos. Provável surto
Peru	Urbana (periférica)	Adultos e crianças	389	(IgM) 19,8	Pesquisa	?	Ungar et al, 1988	IgG+ em 64% nos 2 países
Venezuela	Urbana	Crianças	84	15,5				

AMÉRICA DO SUL

PAÍS	ÁREA	IDADE	Nº IND.	% +	ORIGEMM AT.	EST. IMUN.	REF.	OBS.
BRASIL	Rural	Crianças	117	8	Hospital	IC	Weikel et al, 1985	22 controles
	Urbana	Adultos	157	12,1	Pesquisa	ID (SIDA)	Dias et al, 1988	-
	Urbana (Periférica)	1 a 2 anos	61	5,2	Hospital	IC	Loureiro et al, 1989	86 controles -
	Urbana	Adultos	129	10,10 (18,6 na SIDA)	Pesquisa	ID	Luna Calderon, 1988	Grupo de risco de SIDA
	urbana	Adultos e Crianças	807	10,41	Pesquisa	IC E ID	Guizeline, 1991	Inclui surto em creche
	Urbana	Adultos	80	10	Hospital	ID	Eliá e Madi, 1991	Só portadores de HIV
	Urbana	Adultos	29	10,3	Pesquisa	ID (SIDA)	Lima et al, 1987	-

A ocorrência da criptosporidiose no Brasil é conhecida através de relatos de casos e pequeno número de levantamentos epidemiológicos. Já em 1984, o Professor Amato Neto chamava a atenção para a necessidade da familiarização dos pesquisadores com a criptosporidiose.

Em 1985, WEIKEL et al. relataram o resultado da pesquisa do oocisto da *Cryptosporidium sp.* em amostras de 117 pacientes, obtidas para estudo das diarreias infecciosas em localidade do interior do Ceará (GUERRANT et al, 1983). Essas amostras haviam permanecido congeladas por 2 a 4 anos e a autora questiona se a ocorrência de 8% encontrada não estaria abaixo da real, devido à possível ruptura de oocistos.

CAUDURO et al., em 1986, relataram 6 casos de criptosporidiose em Porto Alegre, RS, e cidades próximas, sendo 2 portadores de SIDA adultos, 2 crianças, das quais 1 desnutrida e 2 adultos sem outros antecedentes.

COELHO et al., em 1987, relataram 1 caso em Botucatu, SP, ocorrido em criança de 5 meses de idade, imunodeficiente, portadora de outras

infecções oportunistas que a levaram a óbito. O achado do *Cryptosporidium sp.* ocorreu no estudo histológico do material de necropsia. Os autores reviram 66 outros casos anteriores de necropsia em óbitos por desnutrição e diarreia aguda, não encontrando nenhum outro caso positivo.

LUNA CALDERON, em 1987, estudou 179 amostras de fezes de 129 indivíduos pertencentes ao grupo de risco de SIDA, no Rio de Janeiro, RJ. Dos 129 pacientes, 72 eram portadores de SIDA, 18 de complexo relacionado, 11 de linfadenopatia crônica e 22 assintomáticos (sendo 9 com sorologia positiva para HIV). Foram positivos para oocistos de *Cryptosporidium sp.* 10,10% dos casos, sendo que todos estavam no grupo de portadores de SIDA. Nesse grupo a prevalência foi, então, de 18,6%.

DIAS et al., em 1988, realizaram levantamento epidemiológico em um grupo de 157 portadores de SIDA e diarreia, residentes em São Paulo, SP, encontrando 12,1% de positividade.

LOUREIRO et al., em 1989, publicaram o resultado de levantamento (resultado preliminar em 1986) efetuado em 115 amostras de fezes de 61 crianças imunocompetentes, durante episódios de diarreia, e 86 controles sem diarreia, em Belém do Pará. Encontrou-se 5,2% de positividade nas diarreias e zero nos controles.

GUIZELINE, em 1990, em São Paulo, relatou os resultados do estudo de 807 amostras de fezes diarreicas de 80 pacientes portadores de SIDA, 248 adultos imunocompetentes e 479 crianças imunocompetentes. A frequência geral encontrada foi de 10,41%, sendo de 21,25% no grupo com SIDA, 12,10% nas crianças e 3,62% nos adultos. No grupo de crianças, 73 amostras foram colhidas na creche do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo durante um surto de criptosporidiose (positividade desse grupo de 19,17%).

ELIA e MADI, em 1991, relataram o encontro do *Cryptosporidium sp.* em 10% das 80 biópsias jejunais realizadas em pacientes infectados pelo HIV em um hospital do Rio de Janeiro, RJ. Foi o agente mais frequentemente associado com a presença de diarreia e má absorção.

3.3.4. Distribuição por idade, sexo e raça

Foram observados dois picos de incidência da criptosporidiose localizando-se nas faixas de 1 a 5 anos e em adultos de 20 a 40 anos, sendo que a preponderância de uma das faixas varia entre os países. A incidência em crianças parece relacionar-se com o início da exposição à contaminação e decréscimo do nível de imunidade passiva adquirida pela amamentação (CASEMORE et al, 1985; MATA et al, 1984 e 1986). Nos adultos jovens, o contato familiar com crianças, a exposição ocupacional, viagens e a maior incidência de SIDA podem ser fatores determinantes. Já em adultos idosos não se registra maior incidência. Por outro lado, a distribuição por sexo é indiferente e aspectos étnicos mostraram-se irrelevantes (CASEMORE, 1990).

3.3.5. Sazonalidade

A infecção em animais não é sazonal (TZIPORI, 1983). As infecções humanas parecem variar com as estações e com a intensidade das chuvas em alguns lugares (MATA et al, 1984; WEIKEL et al, 1985; TZIPORI, 1983; WOLFSON et al, 1984) enquanto em outros, não (MA, 1987; MATHAN et al, 1985). A sazonalidade encontrada, portanto, parece depender de alguns fatores cuja relação com a distribuição ainda não foi bem interpretada (ABEL et al, 1989). Nos estudos brasileiros (WEIKEL et al, 1985 e LOUREIRO et al, 1989) a maior incidência foi encontrada nos meses quentes e chuvosos.

3.3.6. Tempo de incubação e excreção

O tempo de incubação é de aproximadamente 7 dias, sendo difícil defini-lo com precisão devido à diversidade dos modos de transmissão e das fontes potenciais de contaminação. O período de excreção varia de 1 a 4 semanas, iniciando-se com o quadro de diarreia (BAXBY et al, 1985 e 1986; MA, 1987; CASEMORE, 1990). No período patente da doença, a eliminação pode ser muito intensa, porém flutuante. Este período pode ser mais longo e os oocistos eventualmente não

detectáveis por suas características atípicas (BAXBY et al, 1988). Casos em que os oocistos foram detectados muito tempo após a cessação da diarreia ou mesmo em indivíduos assintomáticos definiram a existência do portador assintomático, tanto em imunocompetentes (CURRENT et al, 1983; BAXBY et al, 1985; JOKIPII et al, 1986; ROBERTS et al, 1989) como em imunodeprimidos (JONAS et al, 1983; ZAR et al, 1985; JANOFF et al, 1990). Esta condição não é comum na população em geral, como mostram os controles da maioria dos levantamentos efetuados. Somente dois estudos efetuados no sul da Índia (MATHAN et al, 1985; REINTHALER et al, 1989) demonstraram uma alta prevalência de positividade para oocistos de *Cryptosporidium* sp. em indivíduos saudáveis, sugerindo endemidade na área. Entre os imunodeprimidos o estado de portador pode ser mais comum do que se imagina, uma vez que a eliminação não é eficiente, havendo descrição de persistência do oocisto nas vias biliares com posterior reativação da doença (PITLIK et al, 1983a e 1983b; HINNANT et al, 1989; BLUMBERG et al, 1984).

3.3.7. Modos de transmissão

A transmissão da criptosporidiose é favorecida por condições ambientais inadequadas, tais como pobreza, promiscuidade, falta de educação, falta de sanitização e higiene pessoal pobre (MATA, 1986).

A transmissão ocorre por via fecal-oral (TZIPORI, 1983 e 1988; NAVIN et al, 1984; CASEMORE et al, 1985; O'DONOGHUE, 1985; SOAVE et al, 1986; MA, 1987; JANOFF et al, 1987; ABEL et al, 1989; GARCIA et al, 1989; ZYGMUNT, 1989) por diversos modos comprovados: pessoa a pessoa, animal a pessoa, humano a animal, contaminação fecal humana e animal do ambiente, incluindo água, alimentos e, possivelmente, o ar (TZIPORI, 1988; GARCIA e CURRENT, 1989; CASEMORE, 1990).

O reservatório zoonótico potencial é grande e inclui animais de criação (gado bovino e ovino, suínos, eqüinos, caprinos), animais de estimação (gatos e, possivelmente, cães), e animais selvagens (roedores). Esses últimos atuam como fonte de contaminação para animais de criação e estimação com os quais o homem tem maior contato. A transmissão cruzada foi comprovada entre várias espécies (FAYER et al, 1986; REESE et al, 1982; TZIPORI et al, 1982; CURRENT et al, 1983; O'DONOGHUE, 1985). A associação da infecção humana com a

exposição a bezerros infectados chamou a atenção para o caráter zoonótico da criptosporidiose (CURRENT et al, 1983; SCHULZ, 1983). Dentre os animais de criação, os bezerros são aqueles mais comumente infectados, assim como os carneiros, em países como a Inglaterra e os Estados Unidos. (Não há dados brasileiros a esse respeito.) Outros animais suscetíveis são os potros, veados, cabras e porcos. Isso cria uma condição de contaminação comum para moradores de áreas rurais, assim como para visitantes urbanos em passeios educacionais ou acampamentos (CASEMORE,1990). Por outro lado, a exposição repetida em trabalhadores rurais pode levar à imunização através de infecções assintomáticas e leves (CASEMORE et al, 1985).

O risco ocupacional de exposição à criptosporidiose foi demonstrado em casos ocorridos em estudantes de veterinária (POHJOLA et al, 1986; CURRENT et al, 1983; ANDERSON et al, 1982), em pesquisadores encarregados de inoculação experimental de material positivo (BLAGBURN et al, 1983) e em trabalhadores de fazendas de criadores de gado (RAHMAN et al, 1990; POHJOLA et al, 1986).

Entre os animais de estimação, citou-se o gato em algumas ocasiões como possível reservatório (ISEKI, 1979 apud TZIPORI, 1988; KOCH et al, 1983; CURRENT et al, 1983; HART et al, 1984; LEWIS et al, 1985); os cães e outros (macaco, coelho, porco da Índia, camundongo), embora suscetíveis à infecção, não foram confirmados como fonte de infecção humana em imunocompetentes (ANGUS, 1983).

A transmissão zoonótica indireta, ou seja, através do carreamento do parasita em roupas ou objetos de trabalhadores rurais para seus contatos domiciliares também já foi descrita (RAHMAN et al, 1984).

A transmissão através de alimentos contaminados é de difícil comprovação em vista da dificuldade de cultivar o parasita *in vitro*. Com base em evidências epidemiológicas (MA et al, 1985; JOKIPII et al, 1989) parecem constituir fator de risco a ingestão de leite cru (PHLSSG,1990), salsichas cruas e miúdos de animais (CASEMORE,1990), principalmente para aqueles que não fazem uso habitual e não possuem imunidade.

A transmissão através da água pode ocorrer e vários surtos de criptosporidiose intestinal com grande número de acometidos foram descritos (SMITH et al, 1989; D'ANTONIO et al, 1985; RUSH et al, 1987; HAYES et al, 1989; GALBRAITH, 1989; BROWN et al, 1989). A prática disseminada, mesmo nos países mais desenvolvidos, do

descarregamento dos excrementos humanos e animais no solo, com o auxílio das chuvas e da irrigação, tem o potencial de contaminar o próprio solo, os cursos de água superficiais, as correntes alimentadoras de reservatórios e, secundariamente, as fontes de suprimento de água, tratadas ou não, assim como as plantações de alimentos. O desenvolvimento de métodos mais apropriados para o exame de amostras de água (SMITH et al, 1989) permitiu a detecção de alguns surtos de criptosporidiose de grande extensão nos EUA e na Grã-Bretanha. Em alguns desses eventos, a água incriminada provinha de fontes de águas tratadas (HAYES et al, 1989), criando interesse e preocupação, pois demonstrava-se que a segurança dos suprimentos de água potável não era confiável. A contaminação da água pode, em alguns casos, ser de nível baixo e intermitente, tornando difícil a monitoração. Esse nível de contaminação pode ser responsável por casos esporádicos e pequenos grupos de casos não explicados. A investigação epidemiológica das fontes ambientais sofre restrições metodológicas importantes e encontra-se em estudo para melhor aplicabilidade em termos de saúde pública.

No meio urbano a transmissão é predominantemente não zoonótica e sim pessoa a pessoa. Esse modo de transmissão é atualmente reconhecido como comum (NAVIN et al, 1984; ISAACS et al, 1985; CASEMORE et al, 1985; O'DONOGHUE, 1985; SOAVE et al, 1986; KOCOSHIS, 1986; MA, 1987; JANOFF et al, 1987; TZIPORI, 1988; ABEI et al, 1989; GARCIA et al, 1989; ZYGMUNT, 1989; CASEMORE, 1990) e se faz por via fecal-oral direta ou indireta (JANOFF et al, 1987). Meios adicionais seriam, ainda, o escarro (Immunodeficiency and cryptosporidiosis, 1980; NAVIN et al, 1984) e o vômito (TZIPORI, 1980). A transmissão por aerosol é possível mas não está comprovada (MA, 1987; TZIPORI, 1988).

A comprovação da transmissão pessoa a pessoa se fez através da observação da transmissão dentro de famílias (HART et al, 1984; HUNT et al, 1984; WOLFSON et al, 1985; COLLIER et al, 1984), nas creches (ALPERT et al, 1986; DIERS et al, 1989), em ambientes hospitalares (KOCH et al, 1985; BAXBY et al, 1983b) e em formas de contato urbano (homossexuais) (SOAVE et al, 1984; MATA et al, 1984; HOJLYNG et al, 1984). Doentes e portadores assintomáticos constituem o reservatório da infecção na comunidade.

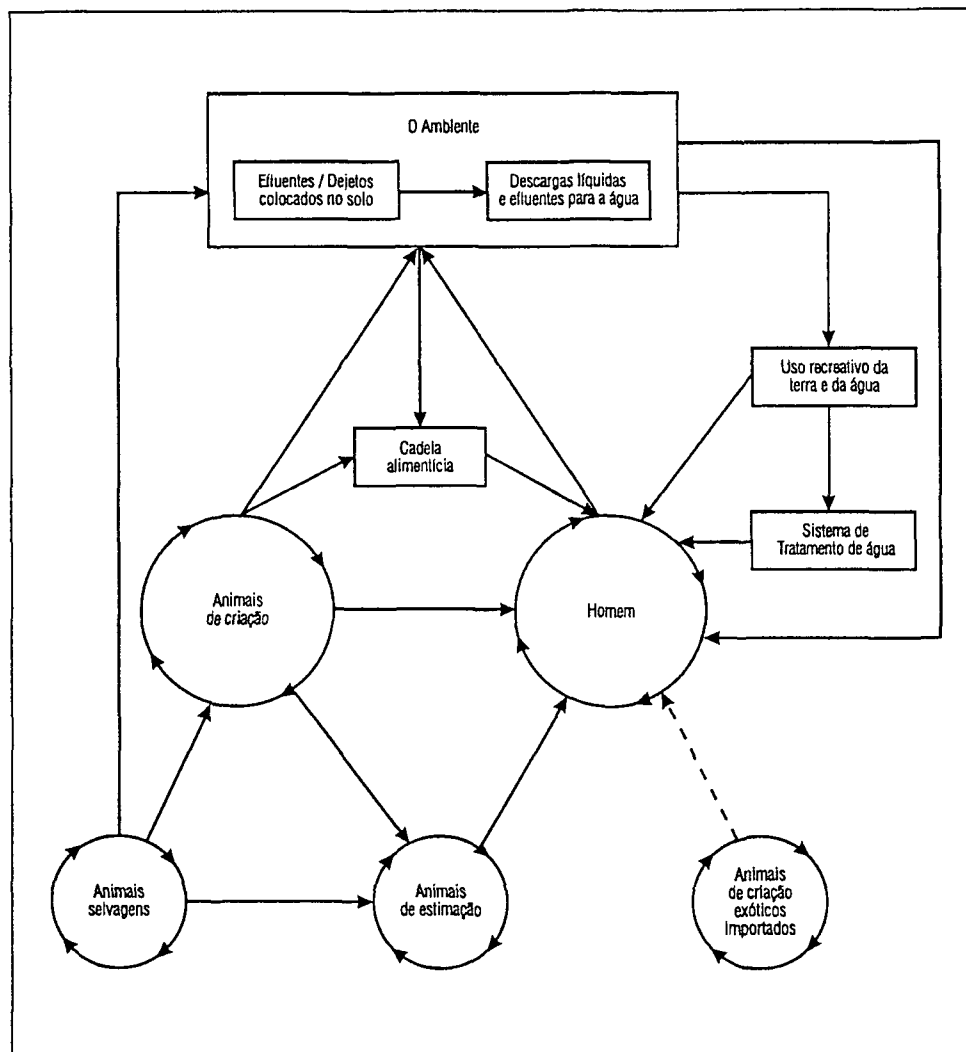


Figura III - Reservatórios e rotas de transmissão do *Cryptosporidium sp.*

Extraído de Casemore, 1980

A infecção hospitalar foi demonstrada pela contaminação de membros da equipe médica e auxiliar (KOCH et al, 1985; BAXBY et al, 1983), assim como pela transmissão de doente para doente (MARTINO et al, 1988). Equipamentos endoscópicos e outros instrumentos podem constituir risco de contaminação indireta, uma vez que os oocistos do *Cryptosporidium sp.* são resistentes a muitos desinfetantes de uso hospitalar e que o calor não pode ser utilizado nos aparelhos de fibra ótica (CASEMORE et al, 1989). O risco é evidentemente maior para pacientes imunodeprimidos internados (MARTINO, 1988).

O modo de transmissão sexual é sugerido, principalmente em homens homossexuais e bissexuais, por alguns relatos e pelo paralelismo encontrado na variação de incidência da criptosporidiose e das doenças

sexualmente transmissíveis (MA, 1987). Cogita-se a participação do *Cryptosporidium sp.* como um dos agentes da síndrome diarreica do homossexual, porém não há comprovação da homossexualidade como fator predisponente independente da condição de imunodeprimido por SIDA (SOAVE et al, 1984; PITLIK et al, 1983; NAVIN et al, 1985; BERK et al, 1984; CASEMORE et al, 1985 e 1990; JOKIPII et al, 1985b).

A criptosporidiose tem sido descrita como causa importante de diarreia do viajante (JOKIPII et al, 1983; HOLTEN-ANDERSEN et al, 1984; JOKIPII et al, 1985a; SOAVE et al, 1985; STERLING et al, 1986; ABEL et al, 1989), geralmente associada com viagens a países menos desenvolvidos ou para áreas rurais. A contaminação pode ocorrer de pessoa a pessoa, direta ou indireta, ou através de água e alimentos.

3.3.8. Infecciosidade e Resistência

O fato de a dose infectante ser pequena, aliado à resistência dos oocistos, aumenta o potencial de contaminação ambiental e hospitalar (TZIPORI, 1983; CURRENT et al, 1984). Estudos foram feitos para tentar definir modos de eliminar a infecciosidade. A mesma capacidade de infeccionar manteve-se, em camundongos, durante 12 passagens sequenciais de oocistos obtidos de bezerros (TZIPORI et al, 1982). As preparações contendo oocistos de *Cryptosporidium sp.* perderam a infecciosidade após um período de estocagem a 4°C, por 8 a 10 semanas, e quando o inóculo foi congelado ou liofilizado.

Para testar a eficácia dos desinfetantes contra os oocistos de *Cryptosporidium sp.*, isolados foram incubados por até 18 horas com 7 diferentes desinfetantes e foi verificada a manutenção da infecciosidade, através de inoculação em camundongos. A formalina e a amônia foram os únicos desinfetantes capazes de destruir a viabilidade dos oocistos. Além de água destilada e solução salina, como controles, foram testados P.V.P.I., formalina a 10%, ácido cresílico, hipoclorito de sódio, cloreto de benzalcônio, amônia e hidróxido de sódio, sendo que alguns em 2 ou 3 concentrações diferentes. Esse estudo sugere que os melhores métodos de descontaminação são a fumigação com formaldeído e com amônia (CAMPBELL et al, 1982).

Inóculos infectantes foram também tratados com calor úmido, obtendo-se inviabilização com aquecimento de 9 a 55°C em período de

15 a 20 minutos e com manutenção do calor de 45°C por 5 a 20 minutos. Portanto a pasteurização do leite neutralizaria a infecciosidade dos oocistos (ANDERSON, 1985).

Outros desinfetantes e métodos físicos testados foram classificados como se segue (CASEMORE et al, 1989).

1- Métodos Químicos *

- a) Totalmente eficaz: água oxigenada a 10 volumes
- b) Parcialmente eficazes: - Exspor#
 - Hipoclorito de sódio a 1%
 - Amônia a 1%
 - Hidróxido de sódio a 1%
- c) Ineficazes: - Glutaraldeído ativado a 2%
 - Formalina a 1%
 - Fenol a 1%
 - Lisol a 4%
 - Hycolin # 2%
 - Etanol a 90%
 - Isopropanol
 - N-propanol
 - Povidine a 10%#
 - KMnO₄ 0,5%
 - Presept #
 - Sporidicin #
 - Dettol # 5%

2- Métodos Físicos (eficazes):

- a) Inativação: - pelo calor (5 a 10 minutos a 50-55°C)

- pelo congelamento

b) Inativação pelo dessecamento

* Exposição por 30 minutos em temperatura ambiente

Nome comercial

3.4. PATOGENIA

A criptosporidiose instala-se no organismo através da ingestão de oocistos de *Cryptosporidium sp.*, produzindo doença gastrointestinal ou respiratória por mecanismos patogênicos que ainda não estão bem esclarecidos.

O papel do *Cryptosporidium sp.* como agente patogênico no ser humano foi questionado por longo tempo devido à sua detecção na presença de outros agentes patogênicos causadores de diarreia (ERICSSON et al, 1983; SOAVE et al, 1986; MA, 1987; TAYLOR et al, 1986). Porém evidências foram acumuladas de que o *Cryptosporidium sp.* pode agir como agente patogênico isolado em indivíduos normais ou imunocomprometidos e em animais através de estudos epidemiológicos (BOGAERTS et al, 1984; HUNT et al, 1984; TAYLOR et al, 1985; SOAVE et al, 1985; MA et al, 1985; KOCH et al, 1985) e experimentais (HEINE et al, 1984; TZIPORI et al, 1981).

A patogenicidade depende de vários fatores, incluindo o tamanho do inóculo, a virulência dos parasitas e a suscetibilidade do hospedeiro.

O inóculo necessário para produzir infecção não está definido mas sugere-se que pode ser pequeno. O tempo de incubação e a expressão sintomática parecem depender da quantidade de oocistos ingeridos (CASEMORE, 1990).

O *Cryptosporidium sp.* não é invasivo. Os vários estágios endógenos alinham-se na superfície luminal das células epiteliais no trato gastrointestinal ou respiratório. A relação entre o parasita e a célula do hospedeiro não é bem conhecida e mecanismos patogênicos podem estar associados à disponibilidade de sítios receptores para o parasita nas células epiteliais (MA, 1987).

A persistência e a gravidade da infecção decorrem de fatores associados ao organismo e ao hospedeiro. No que tange ao parasita, foi verificada a existência de duas formas do estágio infectante (oocisto). Uma dessas formas, a de paredes delgadas, tem a possibilidade de prosseguir o ciclo vital antes de sua eliminação, constituindo, assim, potencial de auto-infecção, prolongando a doença na ausência de exposição repetida.

Estudos epidemiológicos mostraram que a prevalência da criptosporidiose é predominante nos grupos de baixa idade e nos imunocomprometidos. As infecções mais graves também ocorrem nesses grupos. A dependência da prevalência com relação à idade pode indicar um possível papel do sistema de imunidade humoral (MA, 1987). MATA et al (1984) relataram que as crianças amamentadas ao seio materno apresentam uma incidência mais baixa do que aqueles que são desmamados prematuramente. O papel protetor da amamentação é debatido, no entanto, em vista de trabalhos experimentais, discutindo-se se a proteção não seria conferida pela ausência de contato com água contaminada (NAVIN, 1985). A gravidade da criptosporidiose no imunodeprimido pode indicar que são necessárias a imunidade celular e humoral funcionais para resolver a infecção. A SIDA mostrou constituir-se a principal condição clínica predisponente à criptosporidiose. Estudos em animais e observações em humanos com imunodeficiência congênita, adquirida ou ocasionada por medicação, têm tentado esclarecer o papel da disfunção dos linfócitos T e B na patogenia da criptosporidiose (KOCOSHIS et al, 1984; LASSER et al, 1979; WEISBURGER et al, 1979; STEMMERMANN et al, 1980; WEINSTEIN et al, 1981; ANDREANI et al, 1983; SOAVE et al, 1984; SLOPER et al, 1982; MILLER et al, 1983; HEINE et al, 1984).

Em seres humanos, o *Cryptosporidium sp.* foi encontrado colonizando faringe, esôfago, estômago, duodeno, jejuno, íleo, apêndice cecal, colo e reto (NAVIN et al, 1984), vesícula biliar, vias biliares (GUARDA et al, 1983) e epitélio respiratório (MA et al, 1984). O jejuno foi a área mais intensamente infectada (SLOPER et al, 1982; WEISBURGER et al, 1979; Immunodeficiency and cryptosporidiosis, 1980; TZIPORI, 1988). Em animais, diversos outros sítios de colonização já foram descritos.

Há várias hipóteses a respeito do mecanismo que produz dano à mucosa : dano mecânico, destruição de células mediada pela liberação de metabólitos ou toxinas parasitárias, reação de hipersensibilidade da mucosa aos antígenos parasitários. Nenhuma delas foi comprovada (TZIPORI, 1983 e 1988).

A infecção é iniciada pela formação de uma adesão estável entre o organismo e a superfície da mucosa intestinal numa relação bastante peculiar. Segue-se a formação do parasitóforo de localização intracelular extracitoplasmática (MARCIAL e MADARA, 1986). O dano histológico é inespecífico e de intensidade variável, em geral discreto (BIRD et al, 1980; LEFKOWITCH et al, 1984). A mucosa geralmente parece intacta, podendo haver perda de células epiteliais, atrofia e fusão vilosa, alongamento das criptas, infiltrado inflamatório mononuclear de mínimo a moderado na lâmina própria (MEISEL et al, 1976; LASSER et al, 1979; WEISBURGER et al, 1979; BIRD et al, 1980; IMMUNODEFICIENCY and cryptosporidiosis, 1980; STEMMERMAN et al, 1980; SLOPER et al, 1982; BABB et al, 1982; TZIPORI et al, 1983; NAVIN et al, 1984; HEINE et al, 1984; CASEMORE et al, 1985; SOAVE et al, 1986; MARCIAL et al, 1986; MA, 1987; TZIPORI, 1988 ; ZYGMUNT, 1989; GRIGOLATO et al, 1989). Alguns outros achados foram descritos, mas ainda não esclarecidos, como o acúmulo de lisossomos no ápice das células epiteliais (LEFKOWITCH et al, 1984) e raramente acúmulo de eosinófilos (LASSER et al, 1979; SLOPER et al, 1982; HART et al, 1984). Estudos sequenciais mostraram que, com a evolução da doença, as lesões da mucosa evoluíram de alterações discretas para atrofia vilosa subtotal (SLOPER et al, 1982; KOCOSHIS et al, 1984).

A mucosa gástrica é acometida infreqüentemente e dela foram descritas biópsias desde normais (MODIGLIANI et al, 1985) até com presença de gastrite crônica (BLUMBERG et al, 1984).

Entre os fatores que poderiam contribuir para a persistência de infecções intestinais, foram avaliados a motilidade intestinal e a produção de ácido gástrico, as quais mostraram-se normais (COHEN et al, 1984).

A infecção das vias biliares pode levar à colecistite, seja aguda, não complicada (GUARDA et al, 1983), seja grave e até gangrenosa, como foi descrita em co-infecção com citomegalovírus (BLUMBERG et al, 1984).

Vômitos ou aspiração podem levar à disseminação da infecção do tubo digestivo para o trato respiratório. Os parasitas foram encontrados no epitélio da traquéia, bronquíolos, exsudatos alveolares e dentro de macrófagos (KOCOSHIS et al, 1984; MA et al, 1984; BRADY et al, 1984; HARARI et al, 1986). Porém, como em todos os casos descritos haviam infecções concorrentes, é difícil definir o papel do *Cryptosporidium sp.* nas lesões encontradas.

A diarreia aquosa é, sem dúvida, a expressão clínica mais importante da criptosporidiose intestinal. Seus possíveis mecanismos vêm sendo discutidos sem conclusão definitiva. O grau discreto de lesão encontrado na mucosa intestinal e a ausência de leucócitos nas fezes falam contra um mecanismo inflamatório. A característica clínica de diarreia líquida e volumosa, descrita como coleriforme, levando rapidamente à desidratação, sugere que os mecanismos envolvidos seriam secretórios (MODIGLIANI et al, 1985). No entanto, a diarreia secretória é associada à presença de enterotoxinas produzidas pelo agente agressor e, até o presente, nenhuma toxina foi isolada do *Cryptosporidium* sp. (CASEMORE, 1985; SOAVE et al, 1986; TZIPORI, 1988; ZYGMUNT, 1989; GARCIA e CURRENT, 1989). Estudos de perfusão (ANDREANI et al, 1983) demonstraram hipersecreção de líquidos no duodeno e jejuno, que constituem as áreas mais afetadas pela criptosporidiose. Observou-se também diminuição do volume de diarreia com o uso de clorpromazina, o que favorece a hipótese da hipersecreção (KOCOSHIS et al, 1984). Outra característica é a persistência da diarreia após a parada da ingestão oral (JANOFF et al, 1987).

A proliferação intensa dos parasitas no intestino proximal e distal também poderia ocasionar um bloqueio das enzimas digestivas, como a lactase e outras, e da superfície absorptiva, impedindo as trocas de água, eletrólitos e nutrientes, a exemplo do que ocorre na giardíase. Como consequência, ocorre má-absorção demonstrada por esteatorréia, níveis baixos de caroteno sérico, teste da D-xilose alterado e perdas proteicas (KOCOSHIS et al, 1984). O impedimento das enzimas digestoras de carboidratos promoveria, simultaneamente, fenômenos fermentativos, cooperando para a diarreia.

O grau de infestação, sua distribuição ao longo do tubo gastrointestinal e a variabilidade da resposta da mucosa contribuem para o extenso espectro clínico existente entre as espécies e mesmo entre populações humanas.

3.5. QUADRO CLÍNICO

A ocorrência da criptosporidiose foi descrita em pacientes de 3 meses a 95 anos, sendo a distribuição igual em ambos os sexos (GARCIA e CURRENT, 1989). A criptosporidiose no ser humano manifesta-se

através de dois quadros clínicos : uma diarreia curta e autolimitada em indivíduos imunocompetentes e uma diarreia persistente e frequentemente com alto risco de vida em indivíduos imunodeficientes (CRYPTOSPORIDIOSIS, 1984).

A informação existente indica que a infecção no humano tem um espectro de apresentação que se estende da infecção subclínica, da doença leve com um dia de duração até a doença que persiste indefinidamente. A maior parte dos casos está em um ou outro extremo desse espectro, porém há outros que não se enquadram em nenhum desses grandes grupos (TZIPORI, 1988). Algumas infecções persistem por muitos meses sem presença de imunodeficiência (ISAACS et al, 1985). Remissão e cura espontâneas e por tratamento foram relatadas em alguns indivíduos com SIDA (BERKOWITZ e SIDEL, 1985). O estado de portador assintomático também já foi descrito em criança portadora de SIDA (ZAR et al, 1985). Um largo espectro de gravidade e duração ocorre em várias combinações. Grande número de estudos publicados relatam os seguintes achados : diarreia, com fezes variando de amolecidas a aquosas e muito fétidas, dor abdominal, náusea, vômitos, febre, anorexia, desidratação, perda de peso, com sintomas e excreção do oocisto durando de 10 a 14 dias (NIME et al, 1976; CURRENT et al, 1983; NAVIN et al, 1984; CASEMORE et al, 1985; JOKIPII et al, 1986; SOAVE et al, 1986; MA, 1987; TZIPORI, 1988). O padrão mais comum é de uma gastroenterite manifestada por diarreia aquosa, fétida, verde- amarronzada, contendo muco, mas não pus ou sangue, e durando cerca de uma semana (ISAACS et al, 1985b). A diarreia, sintoma mais comum, é precedida por um ou mais dos seguintes: cólicas abdominais, febre baixa, vômitos e anorexia. A frequência relativa desses sintomas é muito variável (TZIPORI, 1988). Um estudo efetuado pelo serviço público de saúde da Grã-Bretanha em grande número de portadores de diarreia infecciosa entre crianças e adultos encontrou 2% de positividade para criptosporidiose. Nesse grupo positivo, de cerca de 1200 pacientes, a doença usualmente se limitou a cólicas abdominais e diarreia aquosa com, no máximo, 6 deposições diárias e duração média de 7 dias. Menos da metade dos doentes apresentou febre ou vômitos. Menos de um décimo dos pacientes apresentou quadro mais grave com toda a sintomatologia e mais de 5 deposições diárias (PUBLIC HEALTH LABORATORY SERVICE STUDY GROUP, 1990).

No paciente imunocompetente em geral, a criptosporidiose lembra o quadro clínico da giardíase (KNIGHT, 1978; TANOWITZ et al, 1988). Em

crianças, eventualmente a doença pode ser debilitante a ponto de requerer intervenção terapêutica (KOCOSHIS, 1986) ou até mesmo ser fatal (MA, 1987; LIEBMAN et al, 1980; SEHGAL et al, 1989). Poucas crianças imunocompetentes apresentaram síndrome de má-absorção transitória (ISAACS et al, 1985). Diarréia prolongada acima de 14 dias de duração foi descrita em algumas crianças bem nutridas (ISAACS et al, 1985a; RAHMAN et al, 1990) e em alguns adultos (EDELMAN et al, 1988). Artrite reativa de grandes e pequenas articulações foi relatada em 2 casos (SHEPHERD et al, 1989). Já foram descritos também envolvimento colônico predominante com diarréia sanguinolenta (NIME et al, 1976; BABB et al, 1981; COGSWELL et al, 1984; BANNISTER et al, 1989) e apresentação com predominância da dor abdominal, levando à apendicectomia (RAMSDEN et al, 1989) e hemicolectomia por suspeita de Doença de Crohn (FLETSCHER et al, 1982). Idosos, provavelmente por apresentarem resposta biológica atenuada a infecções, podem desenvolver quadros mais graves com diarréia intensa, febre e desidratação (BANNISTER et al, 1989). Nos países em desenvolvimento a criptosporidiose é descrita como sendo mais grave, com vômitos, febre e desidratação mais freqüentemente (BOGAERTS et al, 1984; SHAHID et al, 1985).

Nos pacientes imunodeprimidos, os sintomas da criptosporidiose são essencialmente os mesmos da infecção autolimitada exceto pela duração, intensidade e prognóstico (ANGUS, 1983; TZIPORI, 1983 e 1988; NAVIN et al, 1984; WITTNER et al, 1984; CASEMORE et al, 1985; SOAVE et al, 1986; MA, 1987; JANOFF et al, 1987; ABEL et al, 1989; GARCIA e CURRENT, 1989; ZYGMUNT, 1989). A diarréia pode ser intermitente ou contínua, com número de evacuações de 5 até 25 vezes ao dia e débito de 2 a 25 litros por dia (SOAVE et al, 1986). Geralmente profusa e de característica hipersecretória, apresenta-se em alguns casos com esteatorréia levando a má-absorção (LASSER et al, 1979; HALLAK et al, 1982; FORGACZ et al, 1983; MODIGLIANI et al, 1985; KOCOSHIS et al, 1986). Predominância de quadro colônico, com desenvolvimento de megacolon tóxico, foi descrito com boa resposta a tratamento conservador (CONNOLLY et al, 1987). Outros sintomas incluem vômitos, dor abdominal, perda de 10 até 50% do peso corporal (CASEMORE et al, 1985), cefaléia intermitente, febre baixa, sensibilidade abdominal difusa, mal-estar, anorexia e consumo muscular (TZIPORI, 1988). Podem ocorrer infecções intestinais concorrentes (PITLIK et al, 1983; JANOFF et al, 1987; JONAS et al, 1983). A duração da diarréia no imunodeprimido varia de 1 a 78 semanas (média de 20,6 semanas) nos pacientes com SIDA

(CASEMORE et al, 1985). Em outras modalidades de imunodeficiência já foram descritos casos com duração superior a 6 anos (SLOPER et al, 1982). Os casos de criptosporidiose relatados em pacientes submetidos a transplante de medula óssea (PORTNOY et al, 1984; WHITESIDE et al, 1984; COLLIER et al, 1984; MANIVEL et al, 1985; MASSON et al, 1986; RIO et al, 1986; KIBBLER et al, 1987; MARTINO et al, 1988), a transplante renal (WEISBURGER et al, 1979; RONCORONI et al, 1989) e a quimioterapia antineoplásica (MILLER et al, 1983; HEE OH et al, 1984; LEWIS et al, 1985; PRADO J. et al, 1985; FOOT et al, 1990) apresentaram grande variação quanto à gravidade e duração da doença.

Outras manifestações clínicas da criptosporidiose vêm sendo descritas principalmente nos portadores de SIDA. São elas: colecistite crônica ou aguda, podendo ser gangrenosa (GUARDA et al, 1983; PITLIK et al, 1983; BLUMBERG et al, 1984; HINNANT ed, 1989), colangite e pancreatite (GROSS et al, 1986), obstrução pilórica (GARONE et al, 1986), pneumonite (MA et al, 1984; FORGACZ et al, 1983; TZIPORI, 1988), e doença sistêmica (GROSS et al, 1986; KOCOSHIS, 1986; PITLIK et al, 1983). Nos casos de infecção respiratória é difícil saber qual a contribuição da criptosporidiose para o quadro, pois todos os casos descritos apresentavam outra infecção concomitante (citomegalovirus, *Pneumocystis carinii*, etc.). Os sintomas relatados incluem dor de garganta persistente, tosse e dispnéia.

3.6. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NOS ANIMAIS

Em contraste com os seres humanos, os animais não desenvolvem doença crônica, apresentando infecção assintomática ou autolimitada, ou indo a óbito em curto prazo. A criptosporidiose aguda no animal é caracterizada por diarreia aquosa, anorexia e emagrecimento. Algumas aves, além da diarreia, mostram envolvimento do trato respiratório. As manifestações parecem ser dependentes da espécie infectada, da idade e do estado imunológico. Pequenos mamíferos, como os camundongos, ratos, porcos da Índia e coelhos, não desenvolvem diarreia quando infectados, enquanto bezerros, veados, macacos, carneiros, cabras, porcos e ainda os perus podem apresentar quadros diarreicos graves (NAVIN et al, 1984). Os bezerros constituem o grupo mais atingido com alta morbidade e baixa mortalidade, sendo a doença descrita como

comum na América do Norte, na Europa e na Austrália (TZIPORI, 1983). Não há relatos no Brasil.

Os animais mais novos, especialmente os recém-nascidos, são mais suscetíveis à infecção e às manifestações clínicas do que os animais adultos possivelmente por não possuírem imunidade (ANGUS, 1983). O encontro da doença em cavalos com imunodeficiência combinada congênita, em contraste com sua ausência em cavalos normais (SNYDER et al, 1978), constitui evidência direta de que a função imune está associada com a criptosporidiose também nos animais.

3.7. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Antes de 1980 a criptosporidiose intestinal humana era diagnosticada histologicamente por biópsias retais ou intestinais. Com o aumento do número de casos, a necessidade de procedimentos não invasivos e de custo mais baixo tornou-se evidente. Em 1980, verificou-se que o exame de fezes poderia ser o procedimento diagnóstico de eleição (HENRIKSEN e POHLENZ, 1981; TZIPORI, 1980) e hoje o diagnóstico da criptosporidiose intestinal baseia-se largamente na identificação dos oocistos no esfregaço de fezes. Testes sorológicos que medem especificamente anticorpos circulantes foram descritos (TZIPORI et al, 1981; CAMPBELL et al, 1983; UNGAR et al, 1986) e provavelmente ajudarão a definir a prevalência real da infecção nas várias populações humanas, assim como permitirão a distinção entre infecções recentes e antigas. Esses testes, porém, ainda não estão ajustados ao uso para diagnóstico clínico.

A utilização dos diversos métodos, assim como a seleção dos casos a serem submetidos a procedimentos diagnósticos específicos, constituem decisões pertinentes a uma política de triagem que deve ser desenvolvida para cada instituição ou região. Triar todos os espécimes provenientes de pacientes com doença diarréica pode não ser uma abordagem realista nem de custo aceitável. No entanto, desde que indivíduos imunocompetentes e imunodeprimidos podem ter a infecção, pessoas de grupo de risco (tratadores de animais, crianças de creches e seus contatos, imunocomprometidos) e qualquer paciente com diarréia persistente deveriam ser triados para criptosporidiose. Os métodos diagnósticos devem ser selecionados com as seguintes informações em mente:

- a) os oocistos irão variar em número, mesmo nos pacientes imunocomprometidos e com diarreia típica;
- b) os oocistos serão eliminados intermitentemente;
- c) o número de oocistos usualmente é paralelo à severidade da diarreia;
- d) alguns dos métodos deverão ser considerados preliminares e oocistos suspeitos terão que ser confirmados usando outros métodos, como colorações ácido-resistentes ou agentes monoclonais;
- e) o *Cryptosporidium sp.* pode ser recuperado de outras regiões do corpo que não o trato gastrointestinal. (GARCIA e CURRENT, 1989).

3.7.1. Diagnóstico Histológico

O diagnóstico histológico faz-se pelo encontro dos estágios endógenos de desenvolvimento do *Cryptosporidium sp.* no bordo microviloso da mucosa intestinal cuja amostra é obtida por biópsia e examinada por microscopia ótica ou eletrônica. O exame ultraestrutural revela os organismos (2 a 5 micra de diâmetro) localizados individualmente ou em grupos, aderentes à superfície dos enterócitos envolvidos dentro de um vacúolo parasitóforo. Colorações tissulares especiais não trouxeram vantagens sobre a rotineira hematoxilina-eosina. Problemas com a coleta e processamento incluem a necessidade de procedimento invasivo e de fixação imediata. Outro problema em potencial envolve o erro de amostragem, uma vez que nem todas as áreas estarão infectadas. A microscopia eletrônica pode ter que ser utilizada para detalhes celulares e confirmação de exames histológicos rotineiros. Para o diagnóstico da criptosporidiose em outras localizações podem ser examinadas biópsias de vesícula, brônquios e pulmão.

3.7.2. Diagnóstico Laboratorial

O oocisto é o estágio diagnóstico que aparece nas fezes, podendo ser pesquisado também em outros materiais, tais como: aspirado duodenal,

bile, aspirado brônquico e escarro. São múltiplos os métodos de concentração e coloração propostos e já comparados entre si por alguns autores (GARCIA et al, 1983; ARROWOOD et al, 1989). Dentre os mais utilizados estão os ácido-resistentes modificados, com ou sem concentração inicial. SOAVE e MA (1983) propuseram a utilização rotineira de 3 passos diagnósticos: exame a fresco com iodo, identificação definitiva com coloração pelo método de Kinyoun modificado e concentração pelo método de flutuação de Sheather. Esses procedimentos podem ser facilmente adotados em países em desenvolvimento sem necessidade de instrumentos especiais, como microscópio de contraste de fase e microscopia fluorescente. Já CASEMORE et al (1986) propôs a combinação do método da fenolauramina para triagem e coloração ácido-resistente para confirmação. O objetivo em um laboratório clínico deverá ser a adoção de um procedimento simples e rápido para uma fácil identificação do oocisto e que seja capaz de preservar a lâmina como um registro permanente. Se, por um lado, nenhum método de coloração é totalmente sensível, por outro, a aparência dos oocistos é suficientemente típica, em geral, de modo que há pouca dificuldade na identificação. Deve-se considerar que o tamanho e as estruturas internas são critérios importantes para a diferenciação com outros corpúsculos que eventualmente tomem as mesmas colorações (CASEMORE et al, 1985; JOKIPII et al, 1983; BRONSDON et al, 1984). Nesse aspecto, em especial, é importante a diferenciação com as leveduras, a qual se obtém sem dificuldade nas colorações ácido-resistentes.

3.7.2.1. Coleta e Tratamento de Amostras de Fezes:

Trata-se de procedimento não invasivo cujo espécime representa uma amostragem de todo o trato intestinal. Deve ser dada ênfase ao manuseio seguro da amostra por tratar-se freqüentemente de material eliminado por portador de SIDA. Diversos fixadores são usados e incluem formalina tamponada ou não, a 5% ou 10%, mertiolato-iodeto-formalina (MIF) e polivinilalcool (PVA). O dicromato de potássio a 2,5% também é utilizado como preservativo, porém não se trata de um fixador, permanecendo os oocistos viáveis e infectantes. Os esporozoítos dentro dos oocistos tornam-se mais fáceis de reconhecer após uma semana no dicromato de potássio, porque parte do resíduo do oocisto desaparece nesse período (REESE et al, 1982). WILLIAMS et al (1985) sugerem a fixação das amostras de portadores de SIDA em

glutaraldeído diluído a 10:1. Recomenda-se a obtenção de 3 amostras ou mais para diagnóstico, devido ao padrão intermitente de eliminação dos oocistos (REINTHALER et al, 1989; BLAKEY, 1984; CONNOLY et al, 1988). Se necessário, as amostras podem ser conservadas refrigeradas sem perda dos oocistos (MA, 1987). As amostras de aspecto mucóide podem ser tratadas com 10 gotas de hidróxido de potássio (GARCIA et al, 1983).

3.7.2.2. Métodos de Concentração:

As técnicas de concentração das fezes incluem a flutuação dos oocistos em solução de sacarose de Sheather, em solução de sulfato de zinco ou em solução saturada de cloreto de sódio. Os métodos de concentração baseados na sedimentação incluem os métodos da formalina-éter (ALLEN e RIDLEY, 1970) e formalina-etil-acetato. GARCIA et al (1983) demonstraram melhores resultados com a flutuação na solução de sacarose. Apesar de possíveis interferências com propriedades de coloração e com a adesão das amostras à lâmina (CASEMORE et al, 1985), essa técnica é a mais largamente utilizada para a concentração dos oocistos de *Cryptosporidium sp.*, tendo sofrido pequenas modificações com vistas à segurança do manuseio do material (CURRENT et al, 1983; ZIERDT, 1984). À microscopia de campo brilhante, os oocistos aparecerão rosados e à microscopia de fase, brilhantes e refráteis. Alguns investigadores dão preferência à sedimentação em formalina-éter (CASEMORE et al, 1985; JOKIPII et al, 1983; MCNABB et al, 1985), a qual já é rotineira nos laboratórios de parasitologia.

Já a concentração de oocistos em preparações purificadas para estudos imunológicos depende de outros métodos não rotineiros (HEYMAN et al, 1986; WALDMAN et al, 1986).

3.7.2.3. Métodos de Coloração:

Os métodos de coloração normalmente utilizados para exame de ovos e parasitas mostraram-se insensíveis na identificação do *Cryptosporidium sp.* (GARCIA e CURRENT, 1989; NAVIN et al, 1984).

As primeiras descrições de oocistos nas fezes foram obtidas com a aplicação de coloração de Giemsa (POHLENZ et al, 1978; TZIPORI,

1980), considerada quase tão boa quanto as colorações ácido-resistentes (GARCIA et al, 1983). Tendo em vista a necessidade de elaborar um método de coloração sensível para a pesquisa rotineira de oocisto de *Cryptosporidium sp.*, HENRIKSEN e POHLENZ (1981) descreveram uma modificação do método de Ziehl-Neelsen no qual a detecção dos oocistos é satisfatória e não ocorre confusão com as leveduras. O oocisto aparece à magnificação de 200-400 x como um corpúsculo de 3 a 6 micra, densamente corado em vermelho, claramente distinguível contra o fundo verde. Contém um número variável de corpúsculos internos azul-escuros ou amarronzados. Desde então, foram descritas diversas modificações referentes ao uso do método a quente ou a frio e com variações na concentração dos reativos. Algumas modificações incorporam o dimetilsulfóxido (DSMO) (BRONSDON, 1984; ALPERT et al, 1986). As colorações ácido-resistentes são recomendadas, sendo que a escolha representa provavelmente mais uma preferência pessoal do que diferenças técnicas específicas (GARCIA et al, 1983 e 1989; CASEMORE et al, 1984; MA et al, 1983 e MA, 1987).

Outras colorações também têm sido usadas para a identificação do oocisto do *Cryptosporidium sp.* e incluem as seguintes: Giemsa (TZIPORI, 1980); safranina-azul de metileno (BAXBY et al, 1983a e 1984), considerado bom; azul de metileno-eosina (CROSS e MOORHEAD, 1984); anilina-carbolmetil violeta seguida por tartrazina (MILACEK et al, 1985); tricromo, rotineira em parasitologia, mas fraca para *Cryptosporidium sp.* (GARCIA et al, 1989); Gram (ANGUS et al, 1981), também considerada fraca; prata metenamina, que não cora os oocistos mas diferencia as leveduras, corando-as em negro- não é recomendada (GARCIA et al, 1983; BAXBY et al, 1983); nigrosina, também coloração negativa (POHJOLA et al, 1984); PAS e PAS modificado, ambas negativas e fracas (GARCIA et al, 1983; HOREN, 1983). Tanto essas colorações, como as ácido-resistentes, normalmente devem ser examinadas usando lentes de grande aumento e geralmente com imersão em óleo. Já as colorações fluorescentes incluem auramina-rodamina (GARCIA et al, 1983; MA et al, 1983); auramina-carbolfucsina (CORBET FEENEY, 1987; CASEMORE et al, 1984) e acridina-orange (GARCIA et al, 1983; MA et al, 1983). São técnicas de triagem necessitando confirmação quando oocistos são suspeitos.

Foram desenvolvidas também técnicas para a detecção do oocisto nas fezes pela aplicação de anticorpos altamente específicos e sensíveis, monoclonais. A especificidade e a sensibilidade são de 100% (GARCIA

et al, 1987 e 1989). São excelentes métodos para amostras com baixo número de oocistos, sem falsos positivos, devendo substituir os métodos químicos no futuro, nos estudos de prevalência.

3.7.2.4. Métodos sorológicos

Os métodos sorológicos para pesquisa de anticorpos circulantes já foram utilizados para levantamentos epidemiológicos (UNGAR et al, 1988; CASEMORE, 1987; TZIPORI et al, 1981). Não estão disponíveis comercialmente, mas somente em laboratórios de pesquisa e seu principal papel está ligado à determinação da prevalência da infecção pelo *Cryptosporidium sp.*.

3.8. TRATAMENTO

3.8.1. TRATAMENTO

Não há tratamento eficaz para a criptosporidiose no presente (NAVIN et al, 1984; O'DONOGHUE, 1985; KOCOSHIS, 1986; SOAVE et al, 1986; MA, 1987; TZIPORI, 1988; GARCIA et al, 1989; GREENBERG et al, 1989).

Em seres humanos e animais imunologicamente normais, usualmente a doença é autolimitada, os pacientes têm recuperação clínica espontânea e a excreção dos parasitas nas fezes torna-se indetectável em algumas semanas (CRYPTOSPORIDIOSIS, 1984). No entanto, no paciente imunodeficiente e mesmo em alguns casos de imunocompetentes, a doença pode se desenvolver de forma grave e com risco de vida, havendo necessidade da definição de um tratamento eficaz (MA, 1987; TZIPORI, 1988; GARCIA et al, 1989).

Os tratamentos testados ou empregados até o momento incluem:

1. medidas de suporte;
2. reversão do estado de imunodeficiência;
3. quimioterapia.

As medidas de suporte comportam basicamente a correção dos distúrbios hidroeletrólíticos, quase sempre presentes, através de hidratação oral ou parenteral (O'DONOGHUE, 1985; KOCOSHIS, 1986;

JANOFF et al, 1987; GARCIA et al, 1989). O uso de antidiarréicos comuns não tem sido de auxílio, sendo que, em alguns casos, houve aumento da dor abdominal durante seu uso (GARCIA et al, 1989). O emprego da indometacina como reversora dos mecanismos de diarreia coleriforme (YOUNG et al, 1986) foi útil em alguns casos. Na criança, deve-se estar atento ao estado nutricional, se necessário, utilizando hidrolisado proteico e dieta com baixo teor de lactose, se o pH das fezes for inferior a 6 (KOCOSHIS, 1986). Em imunodeficientes com quadros prolongados, pode haver indicação para nutrição parenteral total (Cryptosporidiosis, 1984).

A reversão do estado de imunodeficiência tem sido considerada condição indispensável para obtenção da melhora do quadro diarréico, seja espontaneamente, seja com o uso de drogas. Na imunossupressão temporária, causada por corticosteróides ou quimioterápicos antineoplásicos, a retirada das drogas pode ser suficiente para que a evolução se faça em direção à cura da criptosporidiose (NAVIN et al, 1984). Nos pacientes portadores de SIDA, o tratamento concomitante com zidovudine, promovendo melhora da imunidade celular do doente, foi considerado responsável pela resolução do quadro (GREENBERG et al, 1989; GARCIA e CURRENT, 1989).

Mais de quarenta modalidades terapêuticas foram tentadas sem sucesso ou com resultados variáveis (TZIPORI et al, 1982; TZIPORI, 1983; NAVIN et al, 1984; O'DONOGHUE, 1985; GARCIA e CURRENT, 1989); dentre elas um grande número de quimioterápicos, incluindo antibióticos, antimaláricos e outros antiparasitários. Alguns imunomoduladores vêm sendo testados também. Na tabela VI estão listadas as drogas já testadas.

TABELA VI

Lista dos compostos terapêuticos e preventivos usados para infecção por *Cryptosporidium* sp.

HUMANOS	ANIMAIS	AMBOS
Anfotericina B	Arpinocina	Ampicilina
Salicilato de bismuto	Bleomicina	Amprolium
Fator de transferência bovino	Cloranfenicol	DFMO
Carbenicilina	Clopidol	Furazolidona

HUMANOS	ANIMAIS	AMBOS
Cefamandole	Decoquinato	Gentamicina
Cloroquina	Dimetridazole	Caolim-pectina
Colestiramina	Dinitolmide	Metronidazol
Cimetidine	Emtryl*	Quinacrina
Clindamicina	Enterolyte N*	Salinomicina
Clonidina	Ethopabate	Sulfonamidas
Cloxacilina	Furaltadone	Trimetropim
Colistina	Halofuginone	Trimetropim-sulfametoxazol
Cotrimoxazol	Ipronidazole	
Furoato de diloxanida	Ivermectin*	
Difenoxilato HCl	Lasalocid*	
Doxiciclina	Lincomicina	
Eritromicina	Metilbenzoquato	
Gamaglobulina	Monensina	
Dieta sem glúten	Neomicina	
Indometacina	Nicarbazina	
Interleucina 2	Nistatina	
Iodoquinol	Fenamidina	
Ketoconazole	Robenidina	
Levamisole	Espectinomicina	
Loperamida	Estreptomicina	
Mepacrine	Trinamide	
Naproxyn*	Zoaquin*	
Octreotide		
Paramomicina		
Penicilina		
Pentamidina		
Piperazina		
Primaquina		
Pirametamina		
Quinino		
Septin*		
Somatostatina		
Espiramicina		
Tetraciclina		
Tiabendazol		
Tintura de ópio		
Vancomicina		

* Nomes comerciais

Extraído de Garcia, 1989.

A espiramicina mostrou ser benéfica em alguns estudos, tornando-se o tratamento mais promissor (PORTNOY et al, 1984; WHITESIDE et al, 1984; FAFARD et al, 1990). No entanto, sua eficácia foi questionada em outros relatos (CHNG et al, 1989; GREENBERG et al, 1989; WITTENBERG et al, 1989). Ressalte-se que no caso de Wittenberg tratava-se de um estudo duplo cego, porém o autor discute se a dose utilizada não teria sido baixa. A espiramicina é um antibiótico macrolídeo isolado em 1954 do *Streptomyces ambofaciens*, cujo espectro antimicrobiano é similar ao da eritromicina e tem sido utilizado no tratamento de infecções bacterianas e da toxoplasmose. Concentra-se na saliva e essa propriedade pode contribuir para sua efetividade nos tecidos secretórios gastrointestinais. Efeitos colaterais sérios são raros e não foi relacionado óbito à droga. Os efeitos adversos do tratamento já relatados incluem náusea, vômito, diarreia, dor epigástrica, colite aguda e dermatite de contato (PORTNOY et al, 1984). A dose recomendada para adultos é de 1,0g oral 3 a 4 vezes ao dia e para crianças 500mg oral 2 vezes ao dia (MA, 1987).

A imunoterapia passiva com colostro bovino hiperimune ou fator de transferência bovino oral também produziu resultados variados. TZIPORI relata, em 1986, a melhora clínica da criptosporidiose em uma criança com hipogamaglobulinemia congênita com o uso do colostro bovino hiperimune. Não houve a erradicação do parasita e o paciente veio a apresentar, posteriormente, criptosporidiose nas vias biliares. O ingrediente ativo do colostro bovino hiperimune não é conhecido. A IgG1 bovina assemelha-se à IgA humana e pode ter um papel protetor similar. É resistente ao pH baixo e à proteólise na luz do intestino, é mais seguro do que outras drogas e pode ser esterilizado e congelado sem perda da atividade. Sendo a criptosporidiose comum nos bovinos, talvez possa ser obtido por imunização prévia do animal. Restaria saber se seria útil em imunodeficiências celulares (TZIPORI et al, 1986; TZIPORI et al, 1987; TZIPORI, 1988). UNGAR et al, em 1990, relatam um caso de melhora obtida com colostro bovino hiperimune por infusão duodenal em paciente portador de SIDA e criptosporidiose, sendo que, nesse caso, houve erradicação do parasita nas fezes.

Outros imunomoduladores vêm sendo testados, sendo promissores os resultados obtidos com a interleucina 2 (SOAVE et al, 1986; MA, 1987).

A quimioterapia tem sido um insucesso uniforme. A avaliação do efeito das drogas é empírica e parece ser de pouca utilidade. No futuro, de posse de maiores informações sobre a biologia do organismo, o desenvolvimento de drogas talhadas para atingir alvos específicos

poderá ter melhores resultados (TZIPORI, 1988). A importância dessa busca repousa não só na resolução dos casos mais graves, como também na eliminação de fontes potenciais de contaminação (MA, 1987).

3.8.2. PREVENÇÃO

Considerando que os oocistos do *Cryptosporidium sp.* sobrevivem por longos períodos no ambiente, água, alimentos e portadores animais ou humanos, devem ser adotadas precauções usuais tais como lavar as mãos, evitar contato com indivíduos ou animais infectados, restrição de contatos sexuais múltiplos para a população homossexual e bissexual e uma boa higiene geral. Em laboratórios, os cuidados da equipe com material biológico devem ser formais e incluem o uso de luvas, o fechamento dos frascos a serem centrifugados e o manuseio das amostras sob proteção de chama. Alimentos crus, leite não pasteurizado e água não tratada não devem ser ingeridos em áreas endêmicas. Para descontaminação hospitalar, de creches e domicílios, o método químico considerado mais eficaz e aplicável é o uso da água oxigenada 10 volumes por 30 minutos em temperatura ambiente. A pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium sp.* nas fezes dos pacientes antes de sua internação em unidades de transplante é desejável.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram examinadas 468 amostras de fezes de 420 pacientes, coletadas no período de julho de 1987 a janeiro de 1990 no âmbito do Hospital de Clínicas, do Hospital Nossa Senhora das Graças e do Laboratório de Patologia Clínica Curitiba.

As amostras chegaram ao laboratório de estudos provenientes de:

- a) pacientes internados no Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas;
- b) pacientes internados nos Serviços de Hematologia do Hospital de Clínicas e do Hospital Nossa Senhora das Graças;
- c) amostras de fezes diarréicas enviadas do Laboratório de Parasitologia do Hospital de Clínicas, provenientes de pacientes internados ou ambulatoriais de diversas clínicas;
- d) pacientes portadores de SIDA internados no Isolamento do Hospital de Clínicas.

Com o objetivo de constituir um grupo-controle, foram colhidas e examinadas 164 amostras de fezes com características normais (não diarreicas), de 164 adultos sadios submetidos a exame periódico rotineiro de uma empresa, no Laboratório de Patologia Clínica Curitiba.

As amostras provenientes de doentes foram classificadas como diarreicas ou não, de acordo com seu aspecto por ocasião da coleta.

Os doentes foram classificados como imunocompetentes ou imunodeprimidos, de acordo com os seguintes critérios :

a) Imunocompetentes : pacientes de diversas clínicas do Hospital de Clínicas, não portadores de diagnóstico de doença imunossupressora e não submetidos a uso de medicamentos imunossupressores (amostras obtidas do Laboratório de Parasitologia do Hospital de Clínicas), e pacientes sadios que compõem o grupo controle;

b) Imunodeprimidos : pacientes portadores de leucemias agudas e crônicas e de linfomas, pacientes submetidos ao transplante de medula óssea, pacientes expostos a drogas imunossupressoras e pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de SIDA.

A figura IV mostra o agrupamento planejado e as tabelas VII, VIII e IX mostram a distribuição dos pacientes nos grupos assim como a distribuição por sexo e as faixas etárias abrangidas.

Foram excluídos os pacientes cujas amostras foram consideradas inadequadas para estudo.

As fezes foram colhidas em frascos com formalina a 10% e armazenadas em geladeira a + 4°C por período variável de 01 dia a 11 meses (MA, 1987).

Considerando tratar-se de material possivelmente com reduzido número de oocistos, todas as amostras foram submetidas ao método de concentração por flutuação com Solução de Sheater de acordo com a seguinte técnica (MOURA et al, 1985):

Homogeneização de cerca de 0,5 g de fezes com 8 ml de Solução de Sheater (sacarose 500g; água deionizada 320 ml; fenol 6,5g) e centrifugação por 5 minutos em tubo tampado a 500xg. O material para as lâminas foi colhido com alça de metal da película superior sob proteção de chama.

Foram preparadas 02 lâminas de cada amostra, as quais foram fixadas por imersão em metanol por pelo menos 10 minutos e submetidas a

seguir a coloração pelo método de Ziehl-Neelsen modificado (HENRIKSEN e POHLENZ, 1981) descrito a seguir:

- a) corar com carbol-fucsina concentrada (Merck 15937; 1,0g fucsina, 10 ml etanol, 90 ml fenol 5%) por 20 minutos, sem aquecimento,
- b) enxaguar com água corrente,
- c) descorar com ácido sulfúrico 7% por 20 a 60 segundos,
- d) enxaguar com água corrente,
- e) aplicar contracoloração com verde malaquita 5% (MERCK 1398; 5,0g verde malaquita, 100 ml etanol 10%) por 5 minutos,
- f) enxaguar com água corrente,
- g) secar ao ar, em temperatura ambiente.

Durante todo o estudo, cada grupo de amostras examinadas foi processado simultaneamente com uma amostra conhecida positivamente, proveniente de material cedido pelos laboratórios de microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo e do Laboratório Fleury de São Paulo e, posteriormente, de material positivo do próprio estudo.

O encontro de alguns artefatos nas lâminas trouxe a curiosidade em determinar sua natureza. Com esse fim, algumas amostras foram submetidas, após concentração pelo método do estudo, a outras técnicas de coloração citadas abaixo:

- a) Sudam
- b) Gram
- c) PAS
- e) Grocott
- f) Giemsa
- g) Papanicolaou
- h) a fresco

A montagem da técnica e a aptidão para a leitura das lâminas foram comparadas com outros laboratórios de microbiologia (Laboratório de

Parasitologia do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo e Laboratório Fleury-São Paulo) antes do início da coleta do material utilizado para o presente estudo.

Os resultados obtidos não permitiram análise estatística.

FIGURA IV

GRUPO	COM DIARRÉIA	IMUNODEFICIENTE
		IMUNOCOMPETENTE
	SEM DIARRÉIA	IMUNODEFICIENTE
		IMUNOCOMPETENTE

TABELA VII

Distribuição dos pacientes por idade e sexo

	E. I.	FAIXA ETÁRIA	MASCULINO	FEMININO
COM DIARRÉIA	IC	1 A 81	86	67
	ID	1 A 66	35	12
SEM DIARRÉIA	IC	18 A 50	101	63
	ID	5 A 75	36	20
TOTAL		1 A 81	258	162

LEGENDA: IC= imunocompetente

ID= imunodeficiente

EI = estado imunitário

TABELA VIII

Distribuição dos pacientes por idade

IDADE	COM DIARRÉIA		SEM DIARRÉIA	
	IC	ID	IC	ID
0 - 5	24	01	0	01
6 - 10	06	01	0	02
11 - 20	16	10	*	14
21 - 30	33	14	*	18
31 - 40	27	09	*	07
41 - 50	14	01	*	06
50	25	02	*	02
IDADE NÃO CONHECIDA	08	09	*	06
TOTAL	153	47	164	56

* = todos os pacientes desse grupo tinham de 18 a 50 anos, não se especificando a faixa etária.

TABELA IX

Distribuição dos pacientes nos subgrupos

Estado Imunológico		ID				IC		TOTAL
Subgrupo		TMO	Hemato	SIDA	Subtotal		Subtotal	
Com diarreia	adultos	21	19	05	47	121	153	200
	crianças	01	01	0		32		
Sem diarreia	adultos	13	32	06	56	164	164	220
	crianças	03	02	0		0		
TOTAL		38	54	11	103			420

5. RESULTADOS

5.

RESULTADOS

No período de estudo, que compreendeu de julho de 1987 a janeiro de 1990, foram recebidas para exame 476 amostras de fezes, sendo que 8 (1,7%) foram consideradas inadequadas porque insuficientes, desproporcionais ao conservante ou porque suas características não permitiram o preparo das lâminas.

A revisão dos registros mostrou que 48 amostras correspondiam a segundas e terceiras amostras de um mesmo paciente em curto intervalo, as quais, embora processadas, não foram incluídas no número de casos considerado para os resultados.

Os pacientes foram alocados nos grupos propostos, estando sua distribuição demonstrada nas tabelas VII, VIII e IX do capítulo anterior.

Das 420 amostras de fezes incluídas no estudo, 6 foram positivas para *Cryptosporidium sp.* (1,42%).

O resumo dos dados dos pacientes com amostras positivas encontra-se

no apêndice 1.

As tabelas X, XI, XII e XIII demonstram a distribuição dos casos positivos nos grupos. O Gráfico I compara as ocorrências encontradas nos grupos.

TABELA X
Casos positivos

CASOS POSITIVOS				
CASO	IDADE	SEXO	GRUPO	COMENTÁRIO
M.V.M.	77 a.	M	CD/IC	AVC + SHIGUELOSE
R.C.S.	7 a.	M	CD/IC	AMBULATORIAL
M.A.P.S.	16 a.	M	CD/ID	PÓS TMO
J.T.L.	31 a.	M	CD/ID	DOENÇA DE HODGKIN
E.G.	27 a.	M	CD/ID	SIDA
I.B.N.	35 a.	F	SD/ID	LLA + TUBERCULOSE

Legenda: AVC = acidente vascular cerebral
TMO = transplante de medula óssea
SIDA = síndrome de imunodeficiência adquirida
LLA = leucose linfoblástica aguda

No grupo de pacientes imunocompetentes (com e sem diarreia) como um todo (317 indivíduos) a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* foi de 0,63%. No grupo de imunocompetentes com diarreia (153 casos) houve 2 casos positivos (1,31%), sendo 1 no grupo de adultos (0,83%) e 1 no grupo de crianças (3,13%). No grupo de imunocompetentes sem diarreia o *Cryptosporidium sp.* não foi encontrado.

TABELA XI

Ocorrência do *Cryptosporidium sp.* - Imunocompetentes

RESULTADOS									
IMUNO-COMPE-TENTES	C/ diarréia	Nº +	(%)	S/ diarréia	Nº +	(%)	TOTAL	Nº +	(%)
Adultos	121	1	(0,83)	164	0	-	285	1	(0,35)
Crianças	32	1	(3,13)	0	-	-	32	1	(3,13)
TOTAL	153	2	(1,30)	164	0	-	317	2	(0,63)

TABELA XII

Ocorrência do *Cryptosporidium sp.* - Imunodeficientes

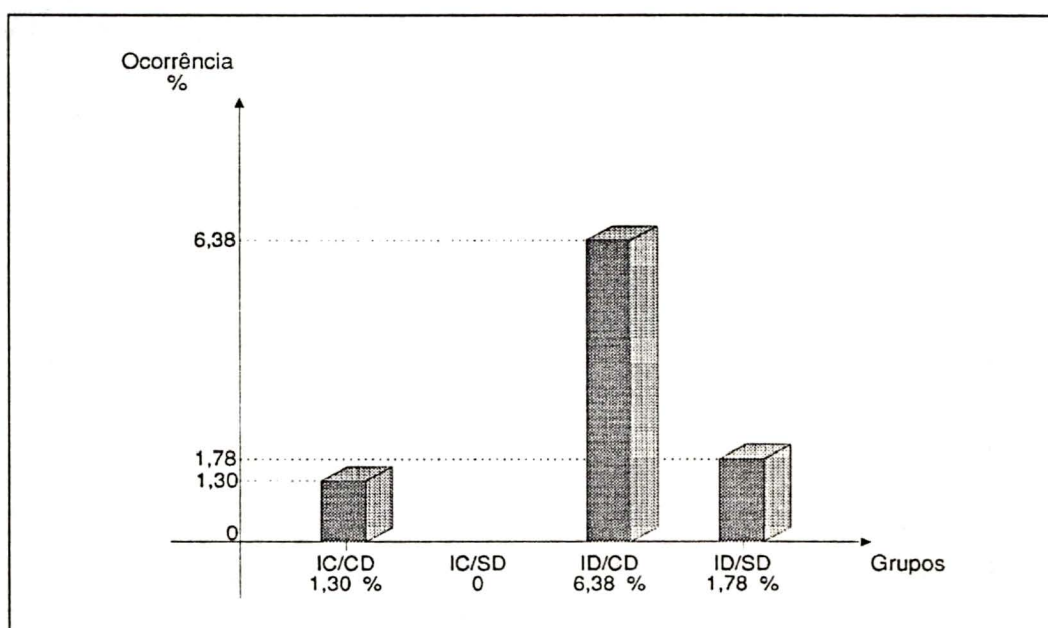
RESULTADOS									
Imunode-ficientes	C/ diarréia	Nº +	(%)	S/ diarréia	Nº +	(%)	TOTAL	Nº +	(%)
TMO	22	1	(4,54)	16	0	-	38	1	(2,63)
Hemato	20	1	(5)	34	1	(2,94)	54	2	(1,85)
SIDA	5	1	(20)	6	0	-	11	1	(9,09)
TOTAL	47	3	(6,38)	56	1	(1,78)	103	4	(3,88)

No grupo total de indivíduos imunodeficientes (103) a ocorrência foi de 3,88%. Dentre os pacientes imunodeficientes com diarréia (47) houve 3 casos positivos (6,38%). No grupo de imunodeficientes sem diarréia (56) houve 1 caso positivo (1,75%).

TABELA XIII
Ocorrência do *Cryptosporidium sp.*
Indivíduos com e sem diarreia

GRUPO	Nº de pacientes	Nº de positivos
Com diarreia	200	5 (2,5%)
Sem diarreia	220	1 (0,45%)
TOTAL	420	6 (142%)

GRÁFICO I
Gráfico de percentuais de positividade



IC/CD - Imunocompetentes com diarreia

IC/SD - Imunocompetentes sem diarreia

ID/CD - Imunodeficientes com diarreia

ID/SD - Imunodeficientes sem diarreia

Do total das amostras apenas 39 eram de crianças, sendo 32 de imunocompetentes com diarreia, 2 de imunodeficientes com diarreia e 5 de imunodeficientes sem diarreia. Houve 1 caso positivo entre as crianças imunocompetentes (3,13%) e nenhum entre as imunodeficientes.

O grupo de imunodeficientes incluiu 38 pacientes do Serviço de Transplante de Medula Óssea, dentre os quais houve 1 caso positivo (2,63%). Se considerados somente os que apresentavam diarreia (22) a ocorrência eleva-se para 4,54%.

De modo similar, o outro grupo de imunodeficientes não-SIDA apresentou ocorrência de 1,85% no conjunto e 5% no subgrupo com diarreia.

Os pacientes portadores de SIDA dos quais foram obtidas amostras foram apenas 11 (13% dos 85 pacientes internados no Hospital de Clínicas no período do estudo e cerca de 4% dos 292 casos notificados à Secretaria de Estado da Saúde até o final do estudo), sendo que dentre os 5 com diarreia houve 1 caso positivo (20%) e não houve nenhum caso entre os 6 pacientes sem diarreia (ocorrência no grupo com SIDA de 9,09%).

O oocisto do *Cryptosporidium sp.* foi identificado como uma estrutura de forma arredondada, corada em rosa forte, com presença de 4 corpúsculos internos de coloração escura e discreto halo claro refringente, sobre fundo verde. O diâmetro medido variou de 4 a 6 micra. (Fotos 1, 2 e 3)

Em todos os casos o número de oocistos foi pequeno, sendo que em um deles apenas 1 oocisto foi visualizado em toda a lâmina. A identificação do oocisto não foi difícil, porém a leitura das lâminas apresentou como fator de dificuldade a presença, em muitos casos, de grande número de elementos arredondados de tamanho variável, sem estruturas internas, uniformemente corados na cor rosa claro ou escuro, tanto em lâminas que resultaram positivas como negativas (foto 4). Na tentativa de esclarecer a natureza desses elementos, procedeu-se à coloração de algumas lâminas ricas nesse material nas técnicas de Ziehl a frio e a quente, Giemsa, Gram, PAS, Grocott, lugol e Sudam III. Esses procedimentos permitiram diferenciar também o oocisto do *Cryptosporidium sp.* dos outros elementos caracterizando não se tratarem de oocistos com certeza, porém não permitiram o esclarecimento definitivo de sua natureza. Tendo sido efetuadas as colorações em material concentrado pela flutuação com solução de Sheater e material não concentrado, concluímos não se tratar de artefatos do método de concentração. As colorações por Gram e lugol definiram não se tratar de fungos e coloração por Sudam III excluiu a possibilidade de gotículas de gordura. Não houve também nenhuma característica clínica dos pacientes que originaram essas amostras, que permitisse outras hipóteses para a natureza desses corpúsculos.

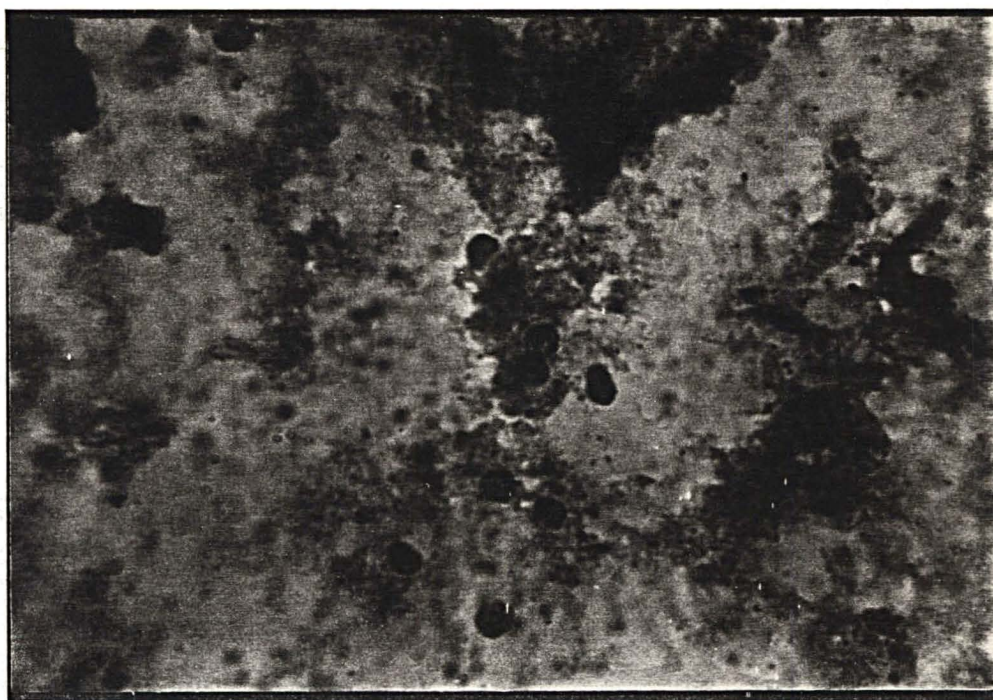


Foto 1 - Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado. Oocistos de *Cryptosporidium sp.*. Aumento original, 1000x.



Foto 2 - Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado. Oocistos de *Cryptosporidium sp.*. Aumento original, 1000x.

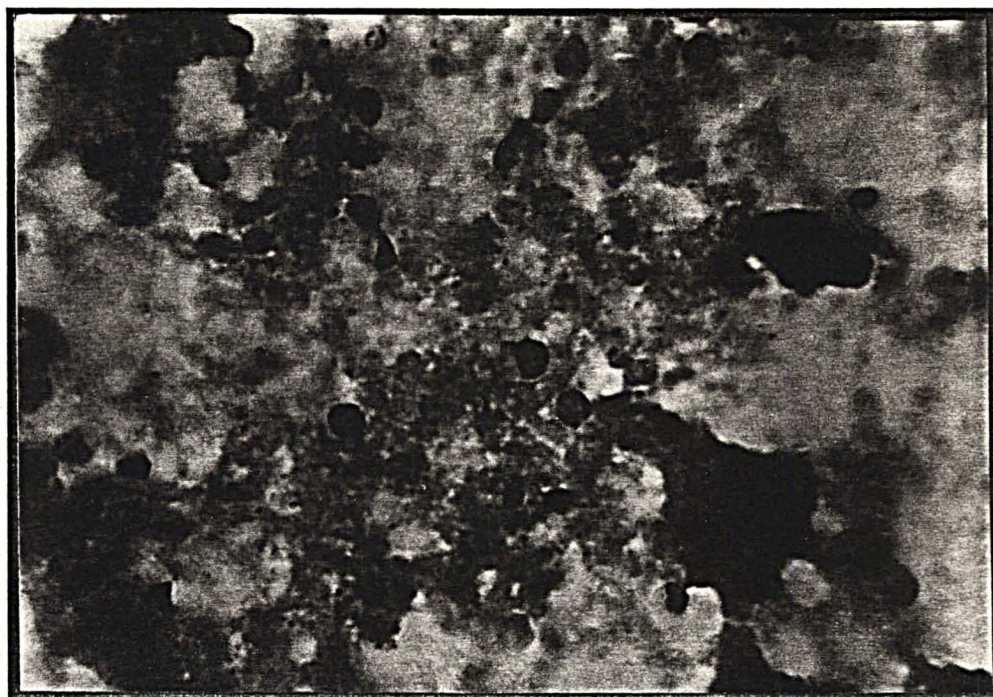
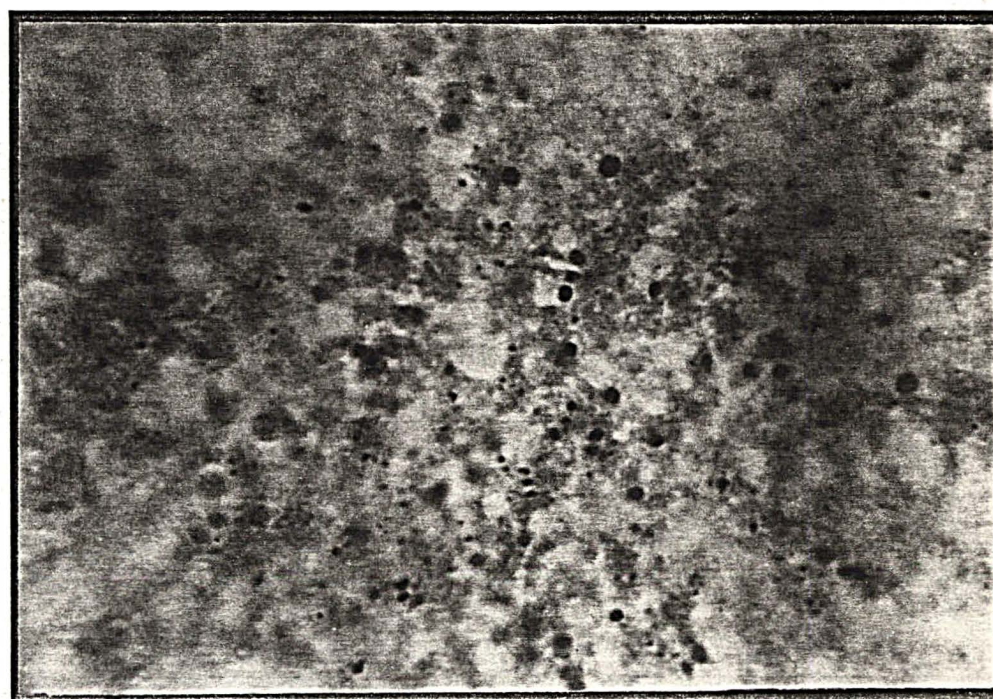


Foto 3 e 4 - Esfregaço de fezes corado pelo Ziehl-Neelsen modificado. Aumento original, 1000x. Observe-se a diferença de tamanho, definição e estrutura interna entre os oocistos de *Cryptosporidium* sp. (acima) e corpúsculos oocisto-símile (abaixo)



6. DISCUSSÃO

6.

DISCUSSÃO

O resultado da presente investigação mostra a existência do *Cryptosporidium* sp. em nosso meio. A ocorrência encontrada, de 1,42% no número total de casos, de 1,31% no grupo de imunocompetentes com diarreia e de 6,38% no grupo de imunodeficientes com diarreia, ficou bastante abaixo daquela encontrada nos demais levantamentos efetuados no Brasil (WEIKEL et al, 1985; DIAS et al, 1988; LIMA et al, 1987; LUNA CALDERON, 1988; LOUREIRO et al, 1989; GUIZELINE, 1991; ELIA e MADI, 1991), em outros países da América Latina e Central (MATA et al, 1984; WEITZ et al, 1986 e 1987; BLANCO et al, 1988; UNGAR et al, 1988; SOAVE et al, 1989; MEIRA et al, 1989; ZDERO et al, 1989) e de alguns países da África (BOGAERTS et al, 1984; HOJLYNG et al, 1984; ADDY et al, 1986; STEELE et al, 1989; KOFFI-AKOUA et al, 1989; UNGAR et al, 1989; MIKHAIL et al, 1989; ESTAMBALE et al, 1989; HIRA et al, 1989; GUESSOUS-IDRISSI et al, 1990), ou seja, com as publicações referentes aos países em desenvolvimento. Considerando que a

técnica utilizada foi adequadamente conduzida e controlada, acreditamos tratar-se de uma discrepância real cujas razões podem ser de diversas ordens. O primeiro aspecto a ser analisado diz respeito ao tipo de população estudada. WEIKEL et al (1985) encontraram uma ocorrência de 8% examinando fezes somente de crianças (em média com 2 anos de idade) residentes em uma comunidade rural do nordeste do Brasil (Ceará) em que a condição de vida é de extrema miséria. De modo semelhante, LOUREIRO et al (1986, 1989) encontraram positividade para *Cryptosporidium sp.* em 5,2% dos exames efetuados em crianças de 1 a 2 anos de idade, residentes na periferia de Belém do Pará, onde as condições de saneamento são também precárias. WEIKEL e LOUREIRO constituíram grupos-controle (sem diarreia) nos quais a pesquisa foi negativa. LUNA CALDERON, no Rio de Janeiro, e DIAS et al, em São Paulo, em 1988, obtiveram, respectivamente, 10,10% e 12,1% de positividade, estudando grupos compostos somente de indivíduos portadores de SIDA ou de grupo de risco portador de HIV. GUIZELINE (1990), examinando amostras encaminhadas para exame parasitológico de fezes no Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo, verificou uma ocorrência de 7% de criptosporidiose intestinal. No entanto é necessário ressaltar que esse material incluiu exames de crianças envolvidas em um surto de diarreia por criptosporidiose na creche que freqüentam.

Em outros países da América Latina e Central, conforme se verifica na tabela V, a ocorrência varia em torno de 4 a 8% no que diz respeito a casos esporádicos. Em países em desenvolvimento na África, os números variaram de cerca de 4 a 12%. Da Índia tem-se o relato de uma larga variação de resultados, de acordo com a área do país onde a pesquisa foi efetuada, indo de 1,3% a 13% a ocorrência de criptosporidiose intestinal. Em todos esses levantamentos, os grupos eram constituídos predominantemente de crianças consideradas imunocompetentes, portadoras de diarreia aguda ou crônica e provenientes de áreas pobres com condições higiênico-sanitárias precárias.

Além desses aspectos referentes ao tipo de população selecionada para estudo, que, pela dissimilaridade com nosso material dificulta a comparação, é interessante notar que, em recente revisão (CASEMORE, 1990), aponta-se a existência de relato excessivo da criptosporidiose. Isso foi verificado em material de diversas partes do mundo e deve-se à confusão gerada pelo aparecimento de corpúsculos oocisto-símbios. Em contrapartida, existe também a possibilidade de um resultado abaixo do real para os casos estudados aqui, a qual será discutida posteriormente.

Nosso estudo visou à determinação da ocorrência da criptosporidiose intestinal em dois grupos de indivíduos com diarreia, sendo um de indivíduos imunocomprometidos e outro de indivíduos imunocompetentes, com idade variando de 1 a 81 anos, porém com predominância do número de adultos. Dois grupos adicionais constituíram-se de indivíduos sem diarreia, sendo um composto por pacientes imunodeficientes e outro por indivíduos saudáveis, com idade variando de 5 a 75 anos e novamente com predominância de adultos. No global, as crianças representaram menos de 10% da amostra. A grande maioria dos pacientes morava em área urbana de Curitiba ou de outras cidades grandes do interior do estado, portanto gozando de ambientes com parâmetros no mínimo aceitáveis de saneamento do meio e tratamento da água. O padrão socioeconômico não foi avaliado especificamente, sendo a amostra possivelmente heterogênea nesse aspecto, o que é ilustrado pelos casos positivos em que temos um lavrador, um aposentado, um estudante, uma dona de casa, um assessor parlamentar e uma criança.

Nossa ocorrência equipara-se àquela encontrada em estudos de casos esporádicos (não epidêmicos) detectados em amostras de pacientes ambulatoriais e internados com diarreia, ou levantamentos de ocorrência em exames de fezes de rotina, efetuados em países como a Inglaterra com 2% — de 0,5 a 3,6%; a Austrália com 1,6% em adultos, embora na somatória com grupos infantis tenha demonstrado 4,1% ; Gales, com 1,4%; Finlândia, com 1% na amostra total, embora os autores tenham ressaltado o dado de 9% no grupo de exames selecionados como positivos para algum tipo de protozoário; Canadá, com 1,2% em amostra com leve predominância do número de crianças; EUA, com 0,61% de positividade basal e 1,1% com inclusão de um surto. Em alguns desses mesmos países há outros estudos com prevalências maiores conforme a região estudada, a existência de surtos epidêmicos e a distribuição das faixas etárias nos grupos examinados. Um estudo feito em Nova Iorque, EUA, visando a uma população de adultos de bom padrão socioeconômico encontrou 0,5% de positividade. (*Vide tabela V*).

Ainda com relação à população estudada aqui, deve-se observar que o número de pacientes imunodeficientes e de crianças é bem menor do que o de adultos imunocompetentes com ou sem diarreia. Portanto a baixa ocorrência verificada no conjunto seria possivelmente aplicável a esse grupo.

A ocorrência no grupo de imunodeprimidos sem diarreia é equiparável

ao resultado global, enquanto que no grupo de imunodeficientes com diarreia ela é cerca de 3 vezes maior. Comparando o grupo com diarreia total com o grupo sem diarreia total, verifica-se que a ocorrência no primeiro é de 2,5% contra 0,45% no segundo, portanto cerca de 5 vezes maior. Também, no conjunto, a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* nos imunodeficientes (3,88%) foi cerca de 6 vezes maior do que nos imunocompetentes (0,63%). No entanto, em vista de que se tratam de números absolutos muito pequenos, não é aplicável estudo de significância estatística.

O segundo aspecto a ser analisado refere-se às técnicas utilizadas. A escolha do método de coloração foi baseada na defesa das técnicas ácido-resistentes encontrada na literatura, sendo a técnica de Ziehl-Neelsen amplamente conhecida em nosso meio e sua modificação a frio facilmente aplicável. A adição da técnica de concentração por flutuação em solução de sacarose deveu-se à previsão do estudo também de amostras de pacientes assintomáticos e, portanto, se positivas, o seriam com número muito baixo de oocistos. Assim, procuramos maximizar a chance de detecção de oocistos. Essa associação não causou transtornos do ponto de vista prático, estando atualmente implantada para aplicação rotineira na pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium sp.* no Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da UFPr. O armazenamento de algumas das amostras em formalina a 10%, em refrigerador a 4°C, por períodos de até 11 meses, pode ter sido responsável por alterações morfológicas ou ruptura de oocistos nessas amostras, falseando sua avaliação e distorcendo o resultado para baixo por falsos negativos. Vale lembrar, porém, que essa situação se deu somente com amostras do grupo de controle (imunocompetentes sem diarreia).

A baixa ocorrência encontrada não permite a avaliação da existência de sazonalidade. No entanto é interessante notar que os poucos casos positivos ocorreram em estações diferentes, não havendo agrupamento no verão ou períodos mais chuvosos como tem sido descrito em outros estudos.

Outra peculiaridade a ser registrada diz respeito ao tipo de manifestação clínica observada nos portadores de criptosporidiose identificados nessa pesquisa. De um modo geral a apresentação seguiu os padrões descritos dentro de um espectro variável em duração (7 a 30 dias) e intensidade (1 a 10 evacuações diárias, líquidas, com ou sem muco). Todavia o caso mais ameno ocorreu no paciente portador de SIDA e o mais grave em adulto imunocompetente, embora idoso. Em 4

dos 6 casos positivos havia concomitância de positividade para bactérias, fungos ou outros protozoários (*Giardia lamblia* ou *Strongylides stercoralis*). No caso positivo em criança, não foi possível obter dados clínicos, mas sabe-se ter sido um atendimento ambulatorial.

Somente um desses casos relatava contato com animal, um gato, aparentemente sadio.

O tratamento com espiromicina foi administrado em um caso, no qual não foi possível avaliar o papel dessa droga na evolução, devido aos múltiplos fatores envolvidos.

Finalmente, podemos dizer que esse estudo, embora limitado, pôde demonstrar a presença do *Cryptosporidium sp.* em nosso meio, com uma ocorrência abaixo daquela encontrada em outros estudos brasileiros, porém compatível com a ocorrência verificada para casos esporádicos nos países desenvolvidos. Salientamos, também, que o estado de portador assintomático não ocorreu entre os indivíduos normais.

Imputamos os resultados ao tipo de população amostrada, às boas condições de saneamento do meio de que dispõe o município de Curitiba e aos cuidados técnicos observados na identificação do *Cryptosporidium sp.*.

Para fins conclusivos, consideramos que o grupo infantil não foi representativo no conjunto da amostra estudada. Porém o encontro do *Cryptosporidium sp.* em 3,13% dos indivíduos dessa faixa etária indica a necessidade de levantamento epidemiológico dirigido a essa população. Igualmente, consideramos que o número de pacientes portadores de SIDA, que foi incluído no grupo de indivíduos imunodeficientes desse estudo, foi insuficiente para que possamos enunciar a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* nessa população em particular.

Verificamos, em concordância com outros trabalhos, que o encontro do parasita ocorreu mais freqüentemente nos indivíduos imunodeficientes e associou-se positivamente à existência de doença diarreica. Tais resultados fazem-nos crer que não se justifica, em nosso meio, a procura rotineira do *Cryptosporidium sp.* nos casos de diarreia aguda em pacientes imunocompetentes, mas alertamos para a necessidade do exame de fezes por técnica adequada nos casos de diarreia em pacientes imunodeficientes.

Os meios para tal tornaram-se disponíveis a partir da implantação dos procedimentos laboratoriais utilizados nesse estudo na rotina do Serviço

de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, prestando-se não só para uso clínico, como também para o treinamento de pessoal técnico a pedido de outras instituições de Curitiba.

7. CONCLUSÕES

7.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos e que satisfizeram a demanda inicial permitem-nos as seguintes conclusões:

1. o *Cryptosporidium sp.* encontra-se presente em Curitiba.
2. a ocorrência do *Cryptosporidium sp.* nos grupos propostos foi de:
 - 1,42% no número total de indivíduos estudados;
 - 0,63% nos indivíduos imunocompetentes estudados, sendo 1,29% nos indivíduos com diarreia e zero nos indivíduos sem diarreia;
 - 3,88% nos indivíduos imunodeficientes estudados, sendo 6,38% nos indivíduos com diarreia e 1,78% nos indivíduos sem diarreia.

8. ABSTRACT

8.

ABSTRACT

With aim of verifying the occurrence of the *Cryptosporidium sp.* in Curitiba, 420 specimens of feces from 317 immunocompetent and 103 immunodeficient individuals were examined. 200 of them presented diarrhea and 220 presented normal feces. The coccidium was identified by modified Ziehl-Neelsen stain associated to concentration by flotation in Sheater's solution in 6 cases (1,42%). Four of them were immunodeficient adults, one was an immunocompetent adult and one was an immunocompetent child. The occurrence in the immunocompetent individuals studied (317) was 0,63%. In the immunocompetent with diarrhea it was 1,31%. Asymptomatic carriage wasn't identified among the healthy individuals studied (164 immunocompetent adults without diarrhea). Among the 32 immunocompetent children with diarrhea only one positive case was found (3,13%). The occurrence in the immunodeficient patients studied was 3,88%. In the immunodeficient group with diarrhea (47 individuals) it was 6,38% and in the immunodeficient without diarrhea (56 individuals)

it was 1,75%. The concentration and staining techniques associated were easy to perform and were adopted in the routine work of the Clinical Laboratory of the Hospital de Clínicas of the Universidade Federal do Paraná. The results obtained showed that the occurrence of the *Cryptosporidium* sp. in Curitiba is low. Thus, its routine search in cases of diarrhea in immunocompetent individuals is not justified. We suggest that this coccidium should be looked for in immunodeficient patients with diarrhea.

9.

APÊNDICE

CASOS POSITIVOS - Dados disponíveis no prontuário médico

CASO M.V.M., nº de registro do HC - 904434, 77 anos, masculino, residente na área urbana de Colombo, portador de seqüela de AVC, internou por quadro infeccioso com febre, diarréia de fezes líquidas e esverdeadas e achado de condensações pulmonares ao RX de tórax. O hemograma apresentava leucocitose, o exame parasitológico de fezes foi negativo e a coprocultura foi positiva para *Shigella flexneri*. Foi tratado com cloranfenicol, apresentando melhora e tendo alta no 33º dia. O paciente tem um gato dentro de casa, aparentemente sadio .

CASO J.T.L., nº de registro do HC - 240137, 31 anos, masculino, lavrador, residente na área rural de Rio Branco do Sul, portador de Doença de Hodgkin com depleção linfocitária IIB sob quimioterapia antineoplásica há 2 meses quando internou por gastroenterocolite

aguda. Apresentava cerca de 10 evacuações por dia, de fezes com muco, sem sangue; não havia relato de febre. O exame parasitológico de fezes mostrou *Strongyloides stercoralis* ++ e a coprocultura foi negativa. O paciente melhorou após 30 dias, tendo recebido tiabendazol, ketoconazole, aciclovir e espiromicina. Não há dados referentes a contacto com animais.

CASO M.A.P.S., nº de registro do HC 840630, 16 anos, masculino, estudante, residente na área urbana de Curitiba, portador de leucose mielóide crônica, internado assintomático para ser submetido a transplante de medula óssea. O transplante evoluiu com mucosite, icterícia e eritema cutâneo, sendo diagnosticada GVHD grau II. Do dia +5 ao dia +11 pós-transplante o paciente apresentou diarreia com 1 a 2 evacuações líquidas amareladas, vômitos e febre. A cultura de fezes para fungos foi positiva. Vários antimicrobianos estavam sendo usados em associação e o paciente apresentou melhora tendo alta no 28º dia. Não há referência a contacto com animais.

CASO E.G., nº de registro do HC - 259661, 27 anos, masculino, assessor parlamentar, residente na área urbana de Curitiba, portador de SIDA e sarcoma de Kaposi, apresentou diarreia durante o acompanhamento ambulatorial, não chegando a necessitar internação. O hemograma mostrava leucopenia e o exame parasitológico de fezes foi positivo para *Giardia lamblia* +++ . A diarreia foi autolimitada. Não há referência a contato com animais.

CASO I.B.N., nº de registro do HC - 689578, 35 anos, sexo feminino, do lar, residente na área urbana de Santo Antonio da Platina, portadora de leucose linfoblástica aguda e tuberculose pleural, fora de quimioterapia, apresentou diarreia durante acompanhamento ambulatorial, não chegando a ser internada. Permaneceu com diarreia durante 7 dias com melhora espontânea. Não há referência a contacto com animais.

CASO R.C.S., paciente do setor de pronto atendimento da Pediatria do Hospital de Clínicas, 7 anos, cuja amostra foi obtida do laboratório de parasitologia por ser de aspecto diarreico, não havendo prontuário médico (sem número de registro).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

10.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, C.; CUBERTAFOND, S.; MOJON, M. Une étiologie nouvelle des diarrhées de retour de l'enfant : la diarrhée à cryptosporidies. **Pédiatrie**, Paris, v. 44, p. 77-81, 1989.

ADDY, P. A.-K.; AIKIN-BEKOE, P. Cryptosporidiosis in diarrhoeal children in Kumasi, Ghana. **The Lancet**, London, v. 1, p. 735, Mar. 29, 1986.

ALLEN, A. V. H.; RIDLEY, D. S. Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites. **The Journal of Clinical Pathology**, London, v. 23, n. 6, p. 545-546, Sept. 1970.

ALPERT, G.; BELL, L. M.; KIRKPATRICK, C. E. et al. Outbreak of cryptosporidiosis in a day-care center. **Pediatrics**, Evanston, IL, v. 7, n. 2, p. 152-157, Feb. 1986.

- AMATO NETO, V. Criptosporidiose. **CCS**, v. 6, n. 2, p. 53, abr./jun. 1984.
- ANDERSON, B. C. Cryptosporidiosis : a review. **The Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, IL, v. 180, n. 112, p. 1455-1457, 1982.
- ANDERSON, B. C. Moist heat inactivation of *Cryptosporidium* sp. **The American Journal of Public Health**, Washington, DC, v. 75, n. 12, p. 1433-1434, Dec. 1985.
- ANDERSON, B. C.; DONNDELINGER, T.; WILKINS, R. M. et al. Cryptosporidiosis in a veterinary student. **The Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, IL, v. 180, n. 4, p. 408-409, Feb. 15, 1982.
- ANDREANI, T.; MODIGLIANI, R.; CHARPENTIER, L. E. et al. Acquired immunodeficiency with intestinal cryptosporidiosis: possible transmission by Haitian whole blood. **Lancet**, London, v. 2, p. 1187-1191, 1983.
- ANGUS, K. W. Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds : a review. **The Journal of the Royal Society of Medicine**, London, v. 76, p. 62-70, Jan. 1983.
- ANGUS, K. W.; CAMPBELL, I.; GRAY, E. W.; SHERWOOD, D. Staining of faecal yeasts and *Cryptosporidium* oocysts . **The Veterinary Record**, London, p. 173, Feb. 21, 1981.
- ARNAUD-BATTANDIER, F.; NACIRI, M.; MAURAGE, C. Cryptosporidiosis in immunocompetent patients (letter). **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 313, p. 1019, 1985.
- ARROWOOD, M. J.; STERLING, C. R. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocysts detection. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 27, n. 7, p. 1490-1495, July 1989.
- BABB, R. R.; DIFFERDING, J. T.; TROLLOPE, M. L. Cryptosporidia enteritis in a healthy professional athlete. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, NY, v. 77, n. 11, p. 833 -834, 1982.
- BANNISTER, P.; MOUNTFORD, R. A. *Cryptosporidium* in the elderly : a cause of life-threatening diarrhea. **The American Journal of Medicine**, Newton, MA, v. 86, p. 507-508, Apr. 1989.

- BARON, E. J.; SCHENONE, C.; TANENBAUM, B. Comparison of three methods for detection of *Cryptosporidium* oocysts in a low-prevalence population. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 27, n. 1, p. 223-224, Jan. 1989.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N. Sensitive, rapid, simple methods for detecting *Cryptosporidium* in faeces. **The Lancet**, London, p.1149, Nov. 12, 1983.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N. Recognition and laboratory characteristics of an atypical oocyst of *Cryptosporidium*. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 158, n. 5, p. 1038-1045, Nov. 1988.
- BAXBY, D.; HART, C. A. The incidence of cryptosporidiosis : a two-year prospective survey in a children's hospital. **The Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 96, n. 1, p. 107-111, Feb. 1986.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C. A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. **The Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 93, n. 2, p. 317-323, 1984.
- BAXBY, D.; HART, C. A.; BLUNDELL, N. Shedding of oocysts by immunocompetent individuals with cryptosporidiosis. **The Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 95, n. 3, p. 703-709, Dec. 1985.
- BAXBY, D.; HART, C. A.; TAYLOR, C. Human cryptosporidiosis : a possible case of hospital cross infection. **The British Medical Journal**, London, v. 287, p. 1760-1761, Dec. 10, 1983.
- BERK, R. N.; WALL, S. D.; MCARDLE, C. B. et al. Cryptosporidiosis of the stomach and small intestine in patients with AIDS. **American Journal of Roentgenology**, Baltimore, MD, v. 143, p. 549-554, Sept. 1984.
- BIRD, R. G.; SMITH, M. D. Cryptosporidiosis in man : parasite life cycle and fine structural pathology. **The Journal of Pathology**, Chichester, v. 132, p. 217-233, 1980.
- BLAGBURN, B. L.; CURRENT, W. L. Accidental infection of a researcher with human *Cryptosporidium* (letter). **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 148, n. 4, p. 772-773, Oct. 1983.

- BLAKEY, J. *Cryptosporidium* in stools. **The Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 140, p. 686, Nov. 10, 1984.
- BLANCO R., R. A.; SAMAYOA, J. C. Diarrea y *Cryptosporidium* en Guatemala. **Boletín Medico del Hospital Infantil de Mexico.**, Mexico, v. 45, n. 3, p. 139-143, Mar. 1988.
- BLUMBERG, R. S.; KELSEY, P.; PERRONE, T. et al. Cytomegalovirus and *Cryptosporidium*-associated acalculous gangrenous cholecystitis. **The American Journal of Medicine**, Newton, MA, v. 76, p. 1118-1123, June 1984.
- BOGAERTS, J.; LEPAGE, P.; ROUVROY, D.; VANDEPITTE, J. *Cryptosporidium* sp., a frequent cause of diarrhea in Central Africa. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 20, n. 5, p. 874-876, Nov. 1984.
- BRADY, E. M.; MARGOLIS, M. L.; KORZENIOWSKI, O. M. Pulmonary cryptosporidiosis in acquired immune deficiency syndrome. **JAMA**, Chicago, IL, v. 252, p. 89-90, 1984.
- BRONSDON, M. A. Rapid dimethyl sulfoxide-modified acid-fast stain of *Cryptosporidium* oocysts in stools specimens. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 19, n. 6, p. 952-953, June 1984.
- BROWN, E. A. E.; CASEMORE, D. P.; GERKEN, A.; GREATORIX, I. F. Cryptosporidiosis in Great Yarmouth - the investigation of an outbreak. **Public Health**, London, v. 103, n. 1, p. 3-9, Jan. 1989.
- CAMPBELL, I.; TZIPORI, S.; HUTCHISON, G.; ANGUS, K. W. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. **The Veterinary Record**, London, v. 111, p. 414-415, Oct. 30, 1982.
- CAMPBELL, P. N.; CURRENT, W. L. Demonstration of serum antibodies to *Cryptosporidium* sp. in normal and immunodeficient humans with confirmed infections. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 18, n. 1, p. 165-169, July 1983.
- CAPRIOLI, A.; GENTILE, G.; BALDASSARRI, R. et al. *Cryptosporidium* as a common cause of childhood diarrhoea in Italy. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, Eng., v. 102, n. 3, p. 537-540, June 1989.

- CASEMORE, D. P. The antibody response to *Cryptosporidium* : development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons. **The Journal of Infection**, London, v. 14, p. 125-34, 1987.
- CASEMORE, D. Cryptosporidiosis : another source. **The British Medical Journal**, London, v. 298, p. 750-751, 1989.
- CASEMORE, D. P. Shedding of oocysts of *Cryptosporidium* in immunocompetent patients. **The Journal of Clinical Pathology**, London, v. 42, n. 7, p. 780-781, July 1989.
- CASEMORE, D. P. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, Eng., v. 104, n. 1, p. 1-28, Feb. 1990.
- CASEMORE, D. P.; ARMSTRONG, M.; SANDS, R. L. Laboratory diagnosis of criptosporidiosis. **The Journal of Clinical Pathology**, London, v. 38, p. 1337-1341, 1985.
- CASEMORE, D. P.; BLEWETT, D. A.; WRIGHT, S. E. Cleaning and disinfection of equipment for gastrointestinal flexible endoscopy : interim recommendations of a Working Party of the British Society of Gastroenterology (letter). **Gut**, London, v. 30, n. 8, p. 1156-1157, Aug. 1989.
- CASEMORE, D. P.; JACKSON, B. Sporadic cryptosporidiosis in children (letter). **The Lancet**, London, v. 2, p. 679, Sept. 17, 1983.
- CASEMORE, D. P.; SANDS, R. L.; CURRY, A. *Cryptosporidium* species a new human pathogen. **The Journal of Clinical Pathology**, London, v. 38, p. 1321-1336, 1985.
- CAUDURO, P. F.; MÉZZARI, A.; DIAS, C. A. G. Diagnóstico laboratorial de *Cryptosporidium*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 18, n. 4, p. 99-102, out./dez. 1986.
- CHNG, H. H.; SHAW, D.; KLESIUS, P.; SAXON, A. Inability of oral bovine transfer factor to eradicate cryptosporidial infection in a patient with congenital dysgammaglobulinemia. **Clinical Immunology and Immunopathology**, New York, NY, v. 50, n. 3, p. 402-406, Mar. 1989.

- COELHO, K. I. R.; MAEDA, S. A.; MARQUES, M. E. A. Intestinal cryptosporidiosis : association with *Pneumocystis carinii*, cytomegalovirus and *Candida sp.* infections. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 323-326, set.- out. 1987.
- COGSWELL, J. J.; RICHARDSON, E. A. Acute self limited colitis (letter). **The British Medical Journal**, London, v. 289, p. 561, Sept. 1, 1984.
- COHEN, J. D.; RUHLIG, L.; JAYTCH, S. A. *Cryptosporidium* in acquired immunodeficiency syndrome. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, NY, v. 29, n. 8, p. 773-777, Aug. 1984.
- COLLIER, A. C.; MILLER, R. A.; MEYERS, J. D. Cryptosporidiosis after marrow transplantation : person-to-person transmission and treatment with spiramycin. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 101, n. 2, p. 205-206, Aug. 1984.
- COLLINS, G. H. Cryptosporidiosis. A "new" disease? **The Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 140, n. 9, p. 516-517, Apr. 28, 1984.
- CONNOLLY, G. M.; GAZZARD, B. G. Toxic megacolon in cryptosporidiosis. **Postgraduate Medical Journal**, London, v. 63, p. 1103-1104, 1987.
- CONNOLLY, G. M.; DRYDEN, M. S.; SHANSON, D. C. et al. Cryptosporidial diarrhea in AIDS and its treatment. **Gut**, London, v. 29, n. 5, p. 593-597, 1988.
- CORBETT-FEENEY, G. *Cryptosporidium* among children with acute diarrhoea in the west of Ireland. **The Journal of Infection**, London, v. 14, p. 79-94, 1987.
- COURA, J. R. Parasitoses nos portadores de AIDS. **JBM**, v. 53, n. 4, p. 42-54, out. 1987.
- CROSS, R. F.; MOORHEAD, P. D. A rapid staining technique for cryptosporidia. **Mod. vet. Pract.**, v. 65, p. 307, 1984.
- CRYPTOSPORIDIOSIS. **The Lancet**, London, v. 1, p. 492-493, Mar. 3, 1984.
- CURRENT, W. L.; REESE, N. C.; ERNST, J. V. et al. Human Cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 308, n. 21, p. 1252-1257, May 23, 1983.

- CURRENT, W.; REESE, N. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. **The Journal of Protozoology**, New York, NY, v. 33, n. 1, p. 98-108, Feb. 1986.
- D'ANTONIO, R. G.; WINN, R. E.; TAYLOR, J. P. et al. A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 103, n. 6, pt 1, Dec. 1985.
- DIAS, R. M. D. S.; MANGINI, A. C. S.; TORRES, D. M. A. G. V. et al. Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the Country of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 310-312, jul./ago. 1988.
- DIERS, J.; MCCALLISTER, G. L. Occurrence of *Cryptosporidium* in home daycare centers in West-Central Colorado. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, KS, v. 75, n. 4, p. 637-638, Aug. 1989.
- EDELMAN, M. J.; OLDFIELD, E. C. Severe cryptosporidiosis in an immunocompetent host. **Archives of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 148, p. 1873-1874, Aug. 1988.
- ELIA, C. C. S.; MADI, K. Diarréias crônicas e síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). In : Kotze, Lorete Maria S. **Diarréias crônicas : diagnóstico e tratamento**. Rio de Janeiro : MEDSI, 1991. p. 451-463.
- ERICSSON, C. D.; DU PONT, H. L. *Cryptosporidium* and diarrhoea (letter). **The Lancet**, London, p. 914, Oct. 15 1983.
- ESTAMBALE, B. B. A.; BWIBO, C. R. A.; KANG'ETHE, S.; CHITAYI, P. M. The occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in faecal samples submitted for routine examination at Kenyatta National Hospital. **East African Medical Journal**, Nairobi, v. 66, n. 12, p. 792-794f, Dec. 1989.
- FAFARD, J.; LALONDE, R. Long-standing symptomatic cryptosporidiosis in a normal man : clinical response to spiramycin. **The Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, NY, v. 12, n. 2, p. 190-191, Apr. 1990.
- FAYER, R.; UNGAR, L. P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiol. Rev.**, v. 50, p. 458-83, 1986.

- FLETSCHER, A.; SIMS, T. A.; TALBOT, I. C. Cryptosporidial enteritis without general or selective immune deficiency. **The British Medical Journal**, London, v. 285, p. 22-23, July 3, 1982.
- FOOT, A. B. M.; OAKHILL, A.; MOTT, M. G. Cryptosporidiosis and acute leukaemia. **Archives of Diseases in Childhood**, London, v. 65, n. 2, p. 236-237, Feb. 1990.
- FORGACS, P.; TARSHIS, A.; MA, P. et al. Intestinal and bronchial cryptosporidiosis in an immunodeficient homosexual man. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 99, n. 6, p. 793-794, Dec. 1983.
- GALBRAITH, N. S. Cryptosporidiosis: another source. **The British Medical Journal**, London, v. 298, p. 276-7, 1989.
- GARCIA, L. S.; BREWER, T. C.; BRUCKNER, D. A. Fluorescence detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 25, n. 1, p. 119-121, Jan. 1987.
- GARCIA, L. S.; BRUCKNER, D. A.; BREWER, T. C.; SHIMIZU, R. Y. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 18, n. 1, p. 185-190, July 1983.
- GARCIA, L. S.; CURRENT, W. L. Cryptosporidiosis : clinical features and diagnosis. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, Boca Raton, FL, v. 27, n. 6, 1989.
- GARONE, M. A.; WINSTON, B. J.; LEWIS, J. H. Cryptosporidiosis of the stomach. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, NY, v. 81, n. 6, p. 465-470, June 1986.
- GOEBEL, E.; BRAENDLER, U. Ultrastructure of microgametogenesis, microgametes and gametogamy of *Cryptosporidium* sp. in the small intestine of mice. **Protistologica**, v. 18, n. 3, p. 331-344, 1982.
- GREENBERG, R. E. ; MIR, R.; BANK, S.; SIEGAL, F. P. Resolution of intestinal cryptosporidiosis after treatment of AIDS with AZT . **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 97, n. 5, p. 1327-1330, Nov. 1989.

- GRIGOLATO, P. G.; VILLANACCI, V.; MANGIARINI, M. G. et al. Cryptosporidiosis of human large intestine in H.I.V.. **Pathologica**, Genoa, v. 81, p. 47-56, 1989.
- GROSS, T. L.; WHEAT, J.; BARTLETT, M. et al. AIDS and multiple system involvement with *Cryptosporidium*. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, NY, v. 81, n. 6, p. 456-458, June 1986.
- GUARDA, L. A.; STEIN, S. A.; CLEARY, K. A. et al. Human cryptosporidiosis in the acquired immune deficiency syndrome. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, Chicago, IL, v. 107, p. 562-566, Nov. 1983.
- GUERRANT, R. L.; KIRCHHOFF, L. V.; SHIELDS, D. S. et al. Prospective study of diarrheal illnesses in northeastern Brazil: patterns of disease, nutritional impact, etiologies, and risk factors. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 148, n. 6, p. 986-997, Dec. 1983.
- GUESSOUS-IDRISSI, N.; ESSADKI, O.; BENNIS, M.; EL KADIOUI, F. Prévalence des cryptosporidies dans les diarrhées infantiles à Casablanca (letter). **La Presse Médicale**, Paris, v. 19, n. 8, p. 379, 3 mar. 1990.
- GUIZELINE, E. **Pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium sp.* nas fezes de pacientes com diarréia, mediante emprego de três técnicas de coloração.** São Paulo, 1991. Tese (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- HALLAK, A.; YUST, I.; RATAN, Y. et al. Malabsorption syndrome, coccidiosis, combined immune deficiency, and fulminant lymphoproliferative disease. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, IL, v. 142, p. 196-197, Jan. 1982.
- HARARI, M. D.; WEST, B.; DWYER, B. *Cryptosporidium* as a cause of laryngotracheitis in an infant. **Lancet**, London, v. 1, p. 1207, 1986.
- HART, C. A.; BAXBY, D.; BLUNDELL, N. Gastro-enteritis due to *Cryptosporidium*: a prospective survey in a children's hospital. **The Journal of Infection**, London, v. 9, p. 264-270, 1984.

- HAYES, E. B.; MATTE, T. D.; O'BRIEN, T. R. et al. Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply . **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, p. 1372-1376, May 25, 1989.
- HEINE, J.; POHLENZ, J. F. L.; MOON, H. W.; WOODE, G. N. Enteric lesions and diarrhoea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* sp. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 150, p. 768-775, 1984.
- HENRIKSEN, S. A. E POHLENZ, J. F. L. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 22, p. 594-596, 1981.
- HEYMAN, M. B.; SHIGEKUNI, L. K. ; AMMANN, A. J. Separation of *Cryptosporidium* oocysts from fecal debris by density gradient centrifugation and glass bead columns. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 23, n. 4, p. 789-791, Apr. 1986.
- HINNANT, K.; SCHWARTZ, A.; ROTTERDAM, H. et al. Cytomegaloviral and cryptosporidial cholecystitis in two patients with AIDS. **The American Journal of Surgical Pathology**, New York, NY, v. 13, n. 1, p. 57-60, Jan. 1989.
- HIRA, P. R.; AL-ALI, F.; ZAKI, M. Human cryptosporidiosis in the Arabian Gulf : first report of infections in children in Kuwait. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 92, p. 249-252, 1989.
- HOJLING, N.; MOLBAK, K.; JEPSEN, S.; HANSSON, A. P. Cryptosporidiosis in liberian children. **The Lancet**, London, p. 734, Mar. 31 1984.
- HOLLEY JR., H. P.; DOVER, C. *Cryptosporidium*: a common cause of parasitic diarrhea in otherwise healthy individuals. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 153, n. 2, p. 365-368, Feb. 1986.
- HOLTEN-ANDERSEN, W.; GERSTOFT, J.; HENRIKSEN, S. A.; PEDERSEN, N. S. Prevalence of *Cryptosporidium* among patients with acute enteric infection. **The Journal of Infection**, London, v. 9, p. 277-82, 1984.
- HOREN, W. P. Detection of *Cryptosporidium* human fecal specimens. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, KS, v. 69, n. 3, p. 622-624, 1983.

- HUNT, D. A.; SHANNON, R.; PALMER, S. R.; JEPHCOTT, A. E. Cryptosporidiosis in an urban community. **British Medical Journal**, London, v. 289, p. 814-816, Sept. 29, 1984.
- IMMUNODEFICIENCY and cryptosporidiosis. **The British Medical Journal**, London, v. 281, p. 1123-1127, Oct. 25, 1980.
- ISAACS, D. Cryptosporidium and diarrhoea. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 60, p. 608-609, 1985.
- ISAACS, D. ; HUNT, G. H.; PHILLIPS, A. D.; PRICE, E. H. et al. Cryptosporidiosis in immunocompetent children . **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 38, p. 76-81, 1985.
- JANOFF, E. N.; BARTH RELLER, L. Cryptosporidium species, a protean protozoan. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 25, n. 6, p. 967-975, 1987.
- JANOFF, E. N.; LIMAS, C.; GEBHARD, R. L. Cryptosporidial carriage without symptoms in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 112, n. 1, p. 75, Jan. 1, 1990.
- JOKIPII, A. M. M.; HEMILA, M.; JOKIPII, L. Prospective study of acquisition of *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, and gastrointestinal illness. **The Lancet**, London, p. 487-489, Aug. 31, 1985.
- JOKIPII, L.; JOKIPII, A. M. M. Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. **New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 315, n. 26, p. 1643-1647, Dec. 25, 1986.
- JOKIPII, L.; POHJOLA, S.; JOKIPII, A. M. M. *Cryptosporidium*: a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms . **The Lancet**, v. 2, p. 358-360, Aug. 13, 1983.
- JOKIPII, L.; POHJOLA, S.; VALLE, S-L.; JOKIPII, A. M. M. Frequency, multiplicity and repertoire of intestinal protozoa in healthy homosexual men and in patients with gastrointestinal symptoms. **Annals of Clinical Research**, v. 17, p. 57-59, 1985.
- JONAS, C.; DEPREZ, C.; DE MAUBEUGE, J. et al. *Cryptosporidium* in patient with acquired immunodeficiency syndrome (letter). **The Lancet**, London, v. 2, p. 964, Oct. 22, 1983.

- KERN, W.; MAYER, S.; KREUZER, P.; VANEK, E. Low prevalence of intestinal cryptosporidiosis among immunocompetent and immunocompromised patients with and without diarrhoea in Southern Germany. **Infection**, Munchen, v. 15, n. 6, p. 440-443, 1987.
- KIBBLER, C. C.; SMITH, A.; HAMILTON-DUTOIT, S. J. et al. Pulmonary cryptosporidiosis occurring in a bone marrow transplant patient. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, v. 19, p. 581-584, 1987.
- KNIGHT, R. Giardiasis, isosporiasis and balantidiasis. **Clinics in Gastroenterology**, v. 7, n. 1, p. 31-47, Jan. 1978.
- KOCH, K. L.; PHILLIPS, D. J.; ABER, R. C.; CURRENT, W. L. Cryptosporidiosis in hospital personnel. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 102, n. 5, p. 593-596, May 1985.
- KOCOSHIS, S. A. Diagnosis and treatment of cryptosporidiosis in children. **Comprehensive Therapy**, Ayer, MA, v. 12, n. 4, p. 56-61, 1986.
- KOCOSHIS, S. A.; CIBULL, M. L.; DAVIS, T. E. Intestinal and pulmonary cryptosporidiosis in an infant with severe combined immune deficiency. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 3, p. 149, 1984.
- KOFI-AKOUA, G.; FERLY-THERIZOL, M.; KOUASSI-BEUGRE, M. T. et al. Cryptosporidies et *Candida* dans les diarrhées infantiles a Abidjan. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique et de ses filiales**, Paris, v. 82, n. 4, p. 451-457, 1989.
- LASSER, K. H.; LEWIN, K. J.; RYNING, F. W. Cryptosporidial enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinemia. **Human Pathology**, Philadelphia, PA, v. 10, n. 2, p. 234-240, Mar. 1979.
- LEFKOWITCH, J. H.; KRUMHOLZ, S.; FENG-CHEN, K.-C. et al. Cryptosporidiosis of the human small intestine: a light and electron microscopic study. **Human Pathology**, Philadelphia, PA, v. 15, n. 8, p. 746-752, Aug. 1984.
- LEVINE, N. D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, KS, v. 66, n. 5, p. 830-834, Oct. 1980.

- _____. Taxonomy and review of the Coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). **The Journal of Protozoology**, New York, NY, v. 31, n. 1, p. 94-98, Feb. 1984.
- LEWIS, I.J.; HART, C. A.; BAXBY, D. Diarrhoea due to *Cryptosporidium* in acute lymphoblastic leukaemia. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 60, p. 60-62, 1985.
- LIEBMAN, W. M.; THALER, M. M.; DELORIMIER, A. et al. Intractable diarrhea of infancy due to intestinal coccidiosis. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 78, p. 579-584, 1980.
- LIMA, D. B.; FERNANDES, O.; SILVA, S. P.; MOURA, H. Parasitoses intestinais em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20: suplemento, p. 25, 1987.
- LOUREIRO, E. C. B.; LINHARES, A. C.; MATA, L. Acute diarrhoea associated with *Cryptosporidium* sp. in Belém, Brazil (preliminary report). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 138-140, mar./abr. 1986.
- LOUREIRO, E. C. B.; LINHARES, A. C.; MATA, L. Criptosporidiose em crianças de 1 a 2 anos de idade, com diarreia aguda em Belém, Pará, Brasil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 117-122, jan./mar. 1989.
- LUMB, R.; ERLICH, J.; DAVIDSON, G. P. Cryptosporidia detection. **The Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 142, p. 329-330, Mar. 4, 1985.
- LUNA CALDERON, J. M. **Criptosporidiose intestinal: ocorrência em um grupo de pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), no município do Rio de Janeiro (Estudo prospectivo. Outubro de 1985-Novembro de 1986)**. Rio de Janeiro, 1987. Tese (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- MA, P. Cryptosporidiosis and imune enteropathy: a review. In: Remington, J. S.; Swartz, M. N., eds. **Current Clinical Topics in Infectious Diseases**. New York: McGraw-Hill, 1987; p. 99-153.
- MA, P.; KAUFMAN, D. L.; HELMICK, C. G. et al. Criptosporidiosis in tourists returning from the Caribbean. **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 312, p. 647-648, 1985.

- MA, P.; SOAVE, R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in ten homosexual men with protracted watery diarrhea. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 147, n. 5, p. 824-828, May 1983.
- MA, P.; VILLANUEVA, T. G.; KAUFMAN, D. et al. Respiratory cryptosporidiosis in the acquired immune deficiency syndrome. **JAMA**, Chicago, IL, v. 252, n. 10, p. 1298-1301, Sept. 14, 1984.
- MALLA, N.; SEHGAL, R; GANGULY, N. K.; MAHAJAN, R. C. Cryptosporidiosis - the indian scene. **The Indian Journal of Pediatrics**, New Delhi, v. 56, n. 1, p. 6-7, Jan./Feb. 1989.
- MANIVEL, C.; FILIPOVICH, A.; SNOVER, D. C. Cryptosporidiosis as a cause of diarrhea following bone marrow transplantation. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, PA, v. 28, n. 10, p. 741-742, Oct. 1985.
- MARCIAL, M. A.; MADARA, J. L. Cryptosporidium: cellular localization, structural analysis of absorptive cell-parasite membrane- membrane interactions in guinea pigs, and suggestion of protozoan transport by M cells . **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 90, n. 3, p. 583-594, 1986.
- MARTINO, P.; GENTILE, G.; CAPRIOLI, A. et al. Hospital-acquired cryptosporidiosis in a bone marrow transplantation unit. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 158, n. 3, p. 647-648, Sept. 1988 .
- MATA, L. *Cryptosporidium* and other protozoa in diarrheal disease in less developed countries . **Pediatric Infectious Disease J.**, Baltimore, MD, v. 5, n. 1, supplement, Jan./Feb. 1986.
- MATA, L.; BOLAÑOS, H.; PIZARRO, D.; VIVES, M. Cryptosporidiosis in children from some highland costa rican rural and urban areas . **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, KS, v. 33, n.1, p. 24-29, 1984.
- MATHAN, M. M.; VENKATESAN, S.; GEORGE, R. et al. *Cryptosporidium* and diarrhoea in southern indian children. **The Lancet**, London, v. 2, p. 1172-1175, Nov. 23, 1985.
- MCCOLL, D.; MOONEY, T. J. Cryptosporidia in Tasmania. **The Medical Journal of Australia**, Sydney, v. 22, p. 900-901, Dec. 8, 1984.

- MCNABB, S. J. N.; HENSEL, D. M.; WELCH, D. F. et al. Comparison of sedimentation and flotation techniques for identification of *Cryptosporidium* sp. oocysts in a large outbreak of human diarrhea. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 22, n. 4, p. 587-589, Oct. 1985.
- MEIRA, P.; TARDÍO, M. T.; CARABELLI, M.; VILLALÓN, L. Cryptosporidiosis en la V Región, Chile. III. Estudio en pacientes desnutridos, 1985-1987. **Boletín Chileno de Parasitología**, Santiago, v. 44, n. 1/2, p. 34-36, 1989.
- MEISEL, J. L.; PERERA, R.; MELIGRO, C.; RUBIN, C. E. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 70, n. 6, p. 1156-1160, 1976.
- MIKHAIL, I. A.; HYAMS, K. C.; PODGORE, J. K. Microbiologic and clinical study of acute diarrhea in children in Aswan, Egypt. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, v. 21, p. 59-65, 1989.
- MILACEK, P.; VITOVEK, J. Differential staining of cryptosporidia by aniline-carbolmethyl violet and tartarazine in sears from feces and scrapings of intestinal mucosa. **Folia Parasitol.**, v. 32, p. 50, 1985.
- MILLER, R. A.; HOLMBERG JR., R. E.; CLAUSEN, C. R. Life-threatening diarrhea caused by *Cryptosporidium* in a child undergoing therapy for acute lymphocytic leukemia. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, MO, v. 103, n. 2, p. 256-259, Aug. 1983 .
- MODIGLIANI, R.; BORIES, C.; LE CHARPENTIER, Y. et al. Diarrhoea and malabsorption in acquired immune deficiency syndrome: a study of four cases with special emphasis on opportunistic protozoan infestations. **Gut**, London, v. 26, p. 179-187, 1985.
- MOURA, H.; OLIVEIRA, L. M. *Cryptosporidium*: parasito de imunocomprometidos? **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 21, n. 6, p. 198-202, 1985.
- NAVIN, T. R. Cryptosporidiosis in Humans: review of recent epidemiologic studies . **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 1, n.2, p. 77-83, June 1985.

- NAVIN, T. R.; JURANEK, D. D. Cryptosporidiosis: clinical, epidemiologic, and parasitologic review. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 6, n. 3, p. 313-327, 1984.
- NIME, F. A.; BUREK, J. D.; PAGE, D. L. et al. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 70, n. 4, p. 592-598, 1976.
- O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* infections in man, animals, birds and fish. **Australian Veterinary Journal**, New South Wales, v. 62, n. 8, p. 253-258, 1985.
- OH, S. H.; JAFFE, N.; FAINSTEIN, V.; PICKERING, L. K. Cryptosporidiosis and anticancer therapy (letter). **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, MO, v. 104, n. 6, p. 963-964, June 1984.
- PAL, S.; BHATTACHARYA, S.K.; DAS, P. et al. Occurrence and significance of *Cryptosporidium* infection in Calcutta. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 83, n. 4, p. 520-521, Jul./Aug. 1989.
- PERWANI, A. V.; BHAVE, S. Y.; BIJM, A. M.; DESAI, A. G. Prevalence of *Cryptosporidium* in children with acute diarrhea. **Indian Journal of Pediatrics**, New Delhi, v. 56, n. 1, p. 133-135, 1989.
- PITLIK, S. D.; FAINSTEIN, V.; GARZA, D. et al. Human Cryptosporidiosis: Spectrum of disease. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, IL, v. 143, p. 2269-2275, Dec. 1983.(a)
- PITLIK, S. D.; FAINSTEIN, V.; RIOS, A. et al. Cryptosporidial cholecystitis (letter). **New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 308, n. 16, p. 967, 1983.(b)
- POHJOLA, S.; JOKIPII, L.; JOKIPII, A. Dimethyl-sulfoxide-Ziehl-Neelsen technique for detection of cryptosporidial oocysts. **Vet. Rec.**, v. 115, p. 442, 1984.
- POHJOLA, S.; OKSANEN, H.; JOKIPII, L.; JOKIPII, A. M. M. Outbreak of cryptosporidiosis among veterinary students. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, v. 18, p. 173-178, 1986.
- POHJOLA, S.; JOKIPII, A. M. M.; JOKIPII, L. Sporadic cryptosporidiosis in a rural population is asymptomatic and associated with contact to cattle. **Acta Vet Scand**, Copenhagen, v. 27, p. 91-102, 1986.

- POHLENZ, J.; MOON, H. W.; CHEVILLE, N. F.; BEMRICK, W. J. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. **The Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, IL, v. 172, n. 4, p. 452-457, Feb. 15, 1978.
- PORTNOY, D.; WHITESIDE, M. E.; BUCKLEY III, E.; MACLEOD, C. L. Treatment of intestinal cryptosporidiosis with spiramycin. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 101, n. 2, p. 202-204, Aug. 1984.
- PORTÚS, M.; SERRA, T.; BOTET, J.; GALLEGÓ, J. Criptosporidiosis humana en España. **Medicina Clínica**, Barcelona, v. 84, n. 11, p. 462, 1985.
- PRADO J. V.; BRINCK M., P.; MARTINEZ D., J. Enteritis por *Cryptosporidium* en un paciente leucémico. **Revista Chilena de Pediatría**, Santiago, v. 56, n. 4, p. 251-253, 1985.
- PUBLIC HEALTH LABORATORY SERVICE STUDY GROUP. Cryptosporidiosis in England and Wales: prevalence and clinical and epidemiological features. **The British Medical Journal**, London, v. 300, p. 774-777, Mar. 24, 1990.
- RAHMAN, A. S. M. H.; SANYAL, S. C.; AL-MAHMUD, K. A. et al. Cryptosporidiosis in calves and their handlers in Bangladesh. **Lancet**, London, v. 2, p. 221, 1984.
- RAHMAN, M.; SHAHID, N.; RAHMAN, H. et al. Cryptosporidiosis : a cause of diarrhea in Bangladesh. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, KS, v. 42, n. 2, p. 127-130, Feb. 1990.
- RAMSDEN, K.; FREETH, M. Cryptosporidial infection presenting as an acute appendicitis. **Histopathology**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 209-224, Feb. 1989.
- RATNAM, S.; PADDOCK, J.; MCDONALD, E. et al. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples submitted for routine microbiological examination. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 22, n. 3, p. 402-404, Sept. 1985.
- REDUCKER, D.W.; SPEER, C. A.; BLIXT, J. A. Ultrastructure of *Cryptosporidium parvum* oocysts and excysting sporozoites as revealed by high resolution scanning electron microscopy. **The Journal of Protozoology**, New York, NY, v. 32, n. 4, p. 708-711, Nov. 1985.

- REESE, N. C.; CURRENT, W. L.; ERNST, J. V.; BAILEY, W. S. Cryptosporidiosis of man and calf : a case report and results of experimental infections in mice and rats. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, KS, v. 31, n. 2, p. 226-229, 1982.
- REINTHALER, F. F.; MASCHER, F.; SIXL, W. et al. Cryptosporidiosis in children in Idukki District in Southern India. **Journal of Diarrhoeal Diseases Research**, Dhaka, v. 7, n. 3&4, p. 89-91, Sept./Dec. 1989.
- RIO, B.; LE TOURNEAU, A.; SOBAHNI, I. et al. Cryptosporidiose au cours d'une greffe de moelle osseuse allogénique. **La Presse Médicale**, Paris, v. 15, n. 30, p. 1414-1416, 20 sept. 1986.
- ROBERTS, W. G.; GREEN, P. H. R.; MA, J. et al. Prevalence of cryptosporidiosis in patients undergoing endoscopy : evidence for an asymptomatic carrier state. **The American Journal of Medicine**, Newton, MA, v. 87, p. 537-539, Nov. 1989.
- RONCORONI, A. J.; GOMEZ, M. A.; MERA, J. et al. Cryptosporidium infection in renal transplant patients (letter). **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 160, n. 3, p. 559, Sept. 1989.
- RUSH, B.A.; CHAPMAN, P. A.; INESON, R. W. *Cryptosporidium* and drinking water. **Lancet**, London, v. 2, p.632-3, 1987.
- SCHULTZ, M. G. Emerging zoonosis. **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 308, n. 21, p. 1285-1286, May 26, 1983.
- SEHGAL, R.; MAHAJAN, R. C.; THAPA, B. R.; GANGULY, N. K. *Cryptosporidium* causing chronic diarrhea. **Indian Journal of Pediatrics**, New Delhi, v. 56, n. 1, p. 129-131, 1989.
- SENGUPTA, P. G.; MONDAL, S.; GUPTA, D. N. et al. Childhood diarrhoea associated with *Cryptosporidium species* in a rural community near Calcutta. **Indian Journal of Public Health**, Calcutta, v. 32, n. 4, p. 205-206, Oct./Dec. 1988.
- SHAHID, N. S.; RAHMAN, A. S. M. H.; ANDERSON, B. C.; MATA, L. J.; SANYAL, S. C. Cryptosporiddiosis in Bangladesh. **The British Medical Journal**, London, v. 20, p. 114-115, Jan. 12, 1985.
- SHEPHERD, R. C.; SMAIL, P. G.; SINHA, G. P. Reactive arthritis complicating cryptosporidial infection. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 64, p. 743-744, 1989.

- SKEELS, M. R.; SOKOLOW, R.; HUBBARD, C. V.; FOSTER, L. R. Screening for coinfection with *Cryptosporidium* and *Giardia* in Oregon Public Health Clinic patients. **The American Journal of Public Health**, Washington, DC, v. 76, n. 3, p. 270-273, Mar. 1986.
- SKEELS, M. R.; SOKOLOW, R.; HUBBARD, C. V.; ANDRUS, J. K.; BAISCH, J. *Cryptosporidium* infection in Oregon Public Health Clinic patients 1985-88: the value of statewide laboratory surveillance. **The American Journal of Public Health**, Washington, DC, v. 80, n. 3, p. 305-308, Mar. 1990.
- SLOPER, K. S.; DOORMASHKIN, R. R.; BIRD, R. B. et al. Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. **Gut**, London, v. 23, p. 80-82, 1982.
- SMITH, H. V.; MCDIARMID, A.; SMITH, A. L.; HINSON, A. R.; GILMOUR, R. A. An analysis of staining methods for the detection of *Cryptosporidium* spp. in water-related samples. **Parasitology**, London, v. 99, p. 323-327, 1989.
- SOAVE, R.; ARMSTRONG, D. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 8, n. 6, p. 1012-1023, Nov./Dec. 1986.
- SOAVE, R.; DANNER, R. L.; HONIG, C. L.; MA, P.; HART, C. C.; NASH, T.; ROBERTS, R. B. Cryptosporidiosis in homosexual men. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, PA, v. 100, p. 504-511, Apr. 1984.
- SOAVE, R.; MA, P. *Cryptosporidiosis*. Travelers' diarrhea in two families. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, IL, v. 145, p. 70-2, 1985.
- SOAVE, R.; RUIZ, J.; GARCIA-SAUCEDO, V. et al. Cryptosporidiosis in a rural community in Central Mexico. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 59, n. 6, p. 1160-1162, June 1989.
- STEELE, A. D.; GOVE, E.; MEEWES, P. J. Cryptosporidiosis in white patients in South Africa. **The Journal of Infection**, London, v. 19, p. 281-285, Nov. 1989 .
- STEMMERMANN, G. N.; HAYASHI, T.; GLOBER, G. A. et al. Cryptosporidiosis : report of a fatal case complicated by disseminated Toxoplasmosis. **The American Journal of Medicine**, Newton, MA, v. 69, p. 637-642, Oct. 1980.

- STERLING, C. R.; SEEGAR, K.; SINCLAIR, N. A. *Cryptosporidium* as a causative agent of traveler's diarrhea. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 153, n. 2, p. 380-381, Feb. 1986 .
- SUBRAMANYAN, V. R.; BROADHEAD, R. L.; PAL, B. B.; PATI, J. B.; MOHANTY, G. Cryptosporidiosis in children of eastern India. **Annals of Tropical Paediatrics**, Abingdon, v. 9, n. 2, p. 122-125, June 1989.
- TANOWITZ, H. B.; WEISS, L. M.; WITTNER, M. Diagnosis and treatment of protozoan diarrheas. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, NY, v. 83, n. 4, p. 339-350, 1988.
- TAYLOR, D. N.; ECHEVERRIA, P. When does *Cryptosporidium* cause diarrhoea ? **The Lancet**, London, v.1, p. 320, Feb. 8, 1986.
- TYZZER, E. E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, NY, v. 5, p. 12-13, 1907.
- _____. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. **Journal of Medical Research**, v. 23, p. 487-509, 1910.
- _____. Coccidiosis in gallinaceous birds. **American Journal of Hygiene**, v. 10, p. 269-383, 1929.
- TZIPORI, S. Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 303, p. 818, Oct. 2, 1980.
- _____. Cryptosporidiosis in animals and humans. **Microbiological Reviews**, Washington, DC, v. 47, n. 1, p. 84-96, Mar. 1983.
- _____. Cryptosporidiosis in perspective. **Advances in Parasitology**, London, v. 27, p. 63-129, 1988.
- TZIPORI, S.; CAMPBELL, I. Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 14, n. 4, p. 455-456, Oct. 1981 .
- TZIPORI, S. R.; CAMPBELL, I.; ANGUS, K. W. The therapeutic effect of 16 antimicrobial agents on *Cryptosporidium* infection in mice. **The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 60 (Pt 2), p. 187-190, Apr. 1982.

- TZIPORI, S.; ROBERTSON, D.; CHAPMAN, C. Remission of diarrhea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. **The British Medical Journal**, London, v. 295, p. 1276-1277, Nov. 15, 1986.
- TZIPORI, S.; ROBERTSON, D.; COOPER, D. A.; WHITE, L. Chronic cryptosporidial diarrhoea and hyperimmune cow colostrum. **The Lancet**, London, p. 344-345, Aug. 8 1987.
- TZIPORI, S.; SMITH, M.; BIRCH, C. et al. Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, KS, v. 32, n. 5, p. 931-934, 1983.
- UNGAR, B. L. P.; GILMAN, R. H.; LANATA, C. F.; PEREZ-SCHAEEL, I. Seroepidemiology of *Cryptosporidium* infection in two latin american populations. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 157, n. 3, p. 551-556, Mar. 1988.
- UNGAR, B. L. P.; MULLIGAN, M.; NUTMAN, T. B. Serologic evidence of *Cryptosporidium* infection in US volunteers before and during Peace Corps Service in Africa. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, IL, v. 149, p. 894-897, Apr. 1989.
- UNGAR, B. L. P.; SOAVE, R.; FAYER, R.; NASH, T. E. Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 153, n. 3, p. 570-578, Mar. 1986.
- UNGAR, B. L. P.; WARD, D. J.; FAYER, R.; QUINN, C. A. Cessation of *Cryptosporidium*-associated diarrhea in an acquired immunodeficiency syndrome patient after treatment with hyperimmune bovine colostrum. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 98, n. 2, p. 486-489, Feb. 1990.
- UPTON, S. J.; CURRENT, W. R. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) infecting mammals. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, KS, v. 71, n. 5, p. 625-629, Oct. 1985.
- VERMUND, S. H.; LAFLEUR, F.; MACLEOD, S. Parasitic infections in a New York City hospital : trends from 1971 to 1984. **The American Journal of Public Health**, Washington, DC, v. 76, n. 8, p. 1024-1026, Aug. 1986 .

- VETTERLING, J. M.; TAKEUCHI, A.; MADDEN, P. A. Ultraestructure of *Cryptosporidium wrairi* from the guinea pig. **The Journal of Protozoology**, New York, NY, v. 18, p. 248-260, 1971.
- WALDMAN, E.; TZIPORI, S.; FORSYTH, J. R. L. Separation of *Cryptosporidium* species oocysts from feces by using a percoll discontinuous density gradient. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 23, n. 1, p. 199-200, Jan. 1986.
- WEIKEL, C.; JOHNSTON, L. I.; SOUZA, M. A.; GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: association with sporadic diarrhea. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 151, n. 5, p. 963-965, May 1985.
- WEINSTEIN, L.; EDELSTEIN, S. M.; MADARA, J. L. et al. Intestinal cryptosporidiosis complicated by disseminated cytomegalovirus infection. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, v. 81, p. 583-591, 1981.
- WEISBURGER, W. R.; HUTCHEON, D. S.; YARDLEY, J. H. et al. Cryptosporidiosis in an immunosuppressed renal-transplant recipient with IgA deficiency. **The American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, PA, v. 72, n. 3, p. 473-478, Sept. 1979.
- WEITZ V., J. C.; RUBÉN MERCADO P., T. M.; TASSARA O., R. et al. Frecuencia de *Cryptosporidium sp.* en pacientes hospitalizados, con síntomas digestivos. **Revista Chilena de Pediatría**, Santiago, v. 57, n. 1, p. 10-12, 1986.
- WEITZ, V. J. C.; MERCADO, R.; TASSARA, R. et al. *Cryptosporidium* en Chile (letter). **Revista Médica do Chile**, Santiago, v. 113, p. 695, 1985.
- WEITZ, V. J. C.; TASSARA O., R.; RUBÉN MERCADO P., P. et al. Brote de cryptosporidiosis en un centro de recuperación nutricional. **Revista Chilena de Pediatría**, Santiago, v. 58, n. 1, p. 50-53, 1987.
- WHITESIDE, M.; MACLEOD, C.; FISCHL, M. et al. Treatment of cryptosporidiosis in patients with AIDS. (MMWR). **JAMA**, Chicago, IL, v. 251, n. 13, p. 1661, Apr. 6, 1984.
- WILLIAMS, J. E.; ELLIS, D. S.; SMITH, M. D. Safe method for identifying *Cryptosporidium* cysts in the faeces of patients with suspected AIDS, or those infected with other serious concomitant pathogens (letter). **The Journal of Clinical Pathology**, London, v. 38, n. 11, p. 1313-1314, 1985.

- WITTENBERG, D. F.; MILLER, N. M.; VAN DEN ENDE, J. Spiramycin is not effective in treating *Cryptosporidium* diarrhea in infants: results of a double-blind randomized trial. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 159, n. 1, p. 131-132, Jan. 1989.
- WITTNER, M.; GOLDFARB, J.; VOGL, S. et al. Fatal Cryptosporidiosis complicating Kaposi's Sarcoma in an immunocompromised man. **The American Journal of Medical Sciences**, Thorofare, NJ, v. 287, n. 2, p. 47-48, Mar./Apr. 1984.
- WOLFSON, J. S.; HOPKINS, C. C.; WEBER, D. J. et al. An association between *Cryptosporidium* and Giardia in stool. (letter). **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 310, p. 788, Mar. 22, 1984.
- WOLFSON, J. S.; RICHTER, J. M.; WALDRON, M. A. et al. Cryptosporidiosis in immunocompetent patients. **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 312, p. 1278-1282, 1985.
- ZAR, F.; GEISELER, P. J.; BROWN, V. A. Asymptomatic carriage of *Cryptosporidium* in the stool of a patient with acquired immunodeficiency syndrome. (letter). **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 151, n. 1, p. 195, Jan. 1985.
- ZDERO, M.; PONCE DE LEON, P.; BOLIGNO, B.; NOCITO, I. Presencia de *Cryptosporidium* sp. en heces diarreicas de una población infantil. **Revista Argentina de Microbiología**, Buenos Aires, v. 21, p. 37-42, 1989.
- ZIERDT, W. S. Concentration and identification of *Cryptosporidium* sp. by use of a parasite concentrator. **The Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 20, n. 5, p. 860-861, Nov. 1984.
- ZYGMUNT, D. J. Cryptosporidium species. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, Thorofare, NJ, v. 10, n. 12, p. 570-572, Dec. 1989.